

Aus der Universitäts-Frauenklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. R. Kepp)

**Die Serum-Hydroxyprolin-Konzentration
während der postpartalen Involution**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Horst Eberhard Michalek
aus Mittweida

Gießen 1971

Aus der Universitäts-Frauenklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. R. Kepp)

**Die Serum-Hydroxyprolin-Konzentration
während der postpartalen Involution**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Horst Eberhard Michalek
aus Mittweida

Gießen 1971



Dekan: Professor Dr. E. Habermann

Referent: Professor Dr. H. Langer

Korreferent: Professor Dr. L. Róka

GLIEDERUNG

	<u>Seite</u>
<u>1.0 Einleitung und Fragestellung</u>	3
1.1 Fragestellung	3
1.2 Hydroxyprolinstoffwechsel	3
1.3 Kollagen, Aufbau und Synthese	5
1.4 Uterus - Uteruskollagen	7
1.4.1 Ruhezustand und Schwangerschaft	7
1.4.2 Involution	9
<u>2.0 Material und Methode</u>	18
2.1 Allgemeines zur Methode	18
2.2 Patientengut	19
2.3 Gewinnung des Serum	19
2.4 Hydroxyprolinbestimmung	20
2.4.1 Reagenzien	20
2.4.2 Geräte	21
2.4.3 Analysengang	22
2.4.3.1 Vorbehandlung	22
2.4.3.2 Hydrolyse	22
2.4.3.3 Filtration	22
2.4.3.4 pH-Einstellung	22
2.4.3.5 Reaktion auf Hydroxy- prolin	23
2.4.3.6 Messung der Extinktion	23
<u>3.0 Ergebnisse</u>	25
3.1 Statistische Auswertung	26
3.2 Fehlerbreite	30
3.3 Tagesprofil	31
3.4 Normale Schwangerschaften	32
3.5 Gestosen	34
3.6 Diabetes mellitus	35
3.7 Traumatisierende geburtshilfliche Eingriffe	36
3.8 Altersvergleich	37
3.9 Vergleich der Paritäten	39

<u>4.0</u>	<u>Zusammenstellung von Abbildungen</u>	
	<u>und Tabellen</u>	42
<u>5.0</u>	<u>Diskussion</u>	59
<u>6.0</u>	<u>Zusammenfassung</u>	66
<u>7.0</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	68
<u>8.0</u>	<u>Lebenslauf</u>	76

I.0 Einleitung und Fragestellung

I.1 Fragestellung

Anlaß zur Beschäftigung mit der postpartalen Involution des Uterus und den damit zusammenhängenden Fragen gab der Exitus einer 23jährigen IV.para, die durch eine spontane Uterusperforation bei Endomyometritis puerperalis verstarb.

Chemische Untersuchungen des Kollagenproteins des puerperalen Uterus im Vergleich mit normalem Uterusgewebe einer Nullipara ergaben eine starke Denaturierung des Kollagens sowie eine vermehrte Freisetzung des löslichen Kollagenanteils. Dieser erhöhte Kollagenabbau bzw. die verminderte Stabilität des Kollagens wurden im vorliegenden Fall als Ursache für die spontane Uterusperforation angesehen (17).

Die Fragen über die Beeinflußbarkeit des postpartalen Kollagenabbaues, zum einen durch entzündliche Vorgänge mit der Möglichkeit der Ansiedlung kollagenasebildender Bakterien, zum anderen durch krankhafte Vorgänge wie Diabetes, Gestose und traumatisierende Eingriffe unter der Geburt sowie das Maß des Serum-Hydroxyprolin als Parameter gaben Anlaß zu den Untersuchungen.

I.2 Hydroxyprolinstoffwechsel

Zum Verständnis der Vorgänge während der Involution und der Methodik seien zunächst die bisher bekannten Ergebnisse kurz zusammengefaßt.

Hydroxyprolin ist ein sekundäres Amin, das beim Menschen nur im Kollagen vorkommt (Ausnahme: Kinder, bei denen es sich auch in anderen Proteinen nachweisen läßt) (47).

Während man früher glaubte, Hydroxyprolin würde eine Stoffwechselendstufe darstellen und nicht weiter metabolisiert werden, ergaben spätere Untersuchungen neue Aufschlüsse über den Hydroxyprolin-stoffwechsel (2, 16, 23, 28, 29, 31, 34, 57).

Hydroxyprolin, als Bestandteil des Kollagens, entstammt nicht dem durch die Nahrung aufgenommenen Hydroxyprolin, sondern entsteht während der Proteinsynthese durch eine irreversible Oxydationsreaktion aus Prolin (23, 47, 57). Zu dieser Oxydation, die im Peptidverband an der Ribosomenoberfläche stattfindet, ist eine Hydroxylase als Coenzym und Ascorbinsäure nötig (28, 29, 34).

Allerdings ist noch nicht entschieden, ob bei der Biosynthese des Hydroxyprolins der normale Syntheseweg über Hydroxyprolin-sRNAs (lösliche Ribonucleinsäure) überhaupt existiert. Da für Hydroxyprolin keine spezifische Aminoacyladenylat-Synthetase, die für die Übertragungsreaktion auf die sRNAs notwendig ist, gefunden wurde und da nach CORONADO u. Mitarb. (2) Prolin in seiner sRNS-Verbindung hydrolysiert werden soll, erscheint es wahrscheinlich, daß der Weg über die Hydroxyprolin-sRNS umgangen wird.

Auch die Frage des Stoffwechsels des durch die Nahrung aufgenommenen Hydroxyprolins konnte zunehmend geklärt werden.

So fand man, daß gefüttertes Hydroxyprolin, das mit N¹⁵ markiert wurde, zum größten Teil abgebaut wurde, wobei sich das N¹⁵ in Glutaminsäure, Asparaginsäure und Arginin wiederfand. Nur minimale Mengen des verfütterten Hydroxyprolin fanden sich bei Ratten in körpereigenen Proteinen wieder (47).

Nach RAPOPORT erfolgt die weitere Umwandlung über das Glutamat zu Oxalacetat und damit zur Glucose

(glucoplastische Eigenschaft des Hydroxyprolin - RAPOPORT) bzw. zum Pyruvat über Glyoxalat zum Oxalat (34).

Die Ausscheidung erfolgt zum größten Teil im Urin, und nur zum geringen Teil in die Faeces (47). HART-MANN (16) bestimmte die Hydroxyprolin-Ausscheidung unter gelatinefreier Diät und optimaler Urinsammlung mit $25,0 \pm 7,3$ mg/d (Extremwerte: 9,0; 36,2). Zu den gleichen Ergebnissen kam 1961 schon PROCKOP u. Mitarb. (31), der auf Werte von 16 - 34 mg/d kam (davon freies Hydroxyprolin = 3%; 0,5 mcg/ml Urin).

Allerdings glaubt er, daß das ausgeschiedene Hydroxyprolin aus Kollagenabbau stammt und relativ unabhängig von beeinflussenden Faktoren, insbesondere der Nahrung ist, wie er mit seinen Belastungsversuchen zeigen konnte.

Gleichzeitig damit fand er eine Abhängigkeit der Ausscheidung des freien Hydroxyprolins, die proportional ist der zusätzlichen Aufnahme von Prolin und Glutaminsäure und erklärte das mit einer kompetitiven Hemmung bei der renalen Rückresorption.

I.3 Kollagen, Aufbau und Synthese

Kollagen, das hauptsächlichste Bauelement des Bindegewebes, nimmt durch seine strukturellen Besonderheiten eine Sonderstellung unter den Proteinen ein. Es hat die Aufgabe, rasch im Extrazellularraum Fibrillen und Fasern zu bilden, die reißfest, quellbar und für die normalen Körperfermente unangreifbar sein sollen. Es ist ein wesentliches Element der Mineralisierung und der Wundheilung (5, 55).

Das Kollagen setzt sich aus Tropokollagenmolekülen zusammen, die 2800 Å lang und 13 - 15 Å dick sind.

Diese Moleküle sind innerhalb der Fibrillen (200 - 500 nm ϕ) um $1/4$ ihrer Länge auf Grund ihrer Ladung gegeneinander versetzt und bedingen durch diese Periodik von 700 Å die Querstreifung. Je drei Molekülketten bilden ein Kollagenmolekül in der Aminosäurezusammensetzung: (pro - Opro - X) $\cdot$ n (10).

Die Kollagenfibrille besteht aus einer rechtsgängigen Tripelhelix, in der drei linksgängige Peptidschrauben verdreht sind. Zusammengehalten werden die Peptide durch H-Brücken und hydrophobe Kräfte. Die Peptide enthalten zu einem Drittel Glycin, 14% Prolin, 8 - 9% Hydroxyprolin, daneben OH-Lysin sowie aromatische und S-haltige Aminosäuren.

Gebildet wird die lösliche Vorstufe im Intrazellularraum, das Tropokollagen innerhalb der Fibroblasten, während die Fibrillen extrazellulär gebildet werden. Der Übergang der Vorstufen aus den Fibroblasten in die Interzellulärsubstanz ist nicht völlig geklärt (9, 42).

Im Organismus befindet sich der größte Teil des Kollagens in der intramolekular vernetzten Form. Auf Grund des Vernetzungsgrades lassen sich mit Hilfe der Ultrazentrifuge drei Kollagentypen unterscheiden (5):

Eine α -Komponente, aus einer Kette bestehend,
eine β -Komponente, aus zwei Ketten bestehend,
eine γ -Komponente, aus drei Ketten bestehend.

Von den drei Ketten haben zwei die gleiche Aminosäurezusammensetzung (α_1), die dritte Kette wird mit α_2 bezeichnet.

In vielen Fällen treten covalente intramolekulare Quervernetzungen auf, z.B. zwischen zwei α_1 -Ketten (β_{11}) oder zwischen einer α_1 und einer α_2 -Kette (β_{12}). Sind alle drei Ketten miteinander vernetzt, so bezeich-

net man dies als γ -Komponente.

Zusammenfassend gibt es drei Typen:

- Typ I : 3α -Komponenten vernetzt MG: 100.000
entspricht der echten Vorstufe des Kollagens
- Typ II : $\alpha + \beta$ -Komponente MG: 200.000
 $\beta = 2\alpha$ -Komponenten vernetzt (Esterbrücken?)
Molverhältnis 1 : 1
Keine obligatorische Zwischenstufe, sondern
unbedeutender Seitenweg
- Typ III : γ -Komponente, d.h. alle drei α -Komponenten
vernetzt.
Lediglich Lösung der Verdrillung bei Denaturierung. Formiert sich zum reifen Kollagen.

Die Art der Quervernetzung ist entscheidend für die Löslichkeit des Kollagens.

Die Kollagenbiosynthese ist in jungen Organismen sehr intensiv (besonders der neutralsalzlösliche Anteil vermehrt), während mit zunehmendem Alter der unlösliche Anteil auf Grund der abnehmenden Syntheserate und damit auch die Quervernetzung zunimmt (5, 55).

Die Halbwertszeit der Kollagenvorstufen beträgt zwei bis drei Tage, die Halbwertszeit des Kollagens selbst beträgt ungefähr 100 Tage, d.h. es wird sehr langsam abgebaut (8, 26).

I.4 Uterus - Uteruskollagen

I.4.1 Ruhezustand und Schwangerschaft

Der Uterus ist auf Grund seiner Funktion während der Schwangerschaft und besonders während der Wehentätig-

keit Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Der menschliche Uterus hat ein Gewicht von ungefähr 75 g und enthält 30-40 Vol.% Muskulatur (JAISLE 45% (18)), wobei noch gewisse Unterschiede zwischen Corpus und Cervix berücksichtigt werden müssen (Cervix: 10-15% Muskulatur, Corpus bindegewebsärmer). Der Uterus enthält normalerweise 4,9 g Kollagen, zur Zeit der Geburt 33,4 g (55).

CRETIUS u. Mitarb. (5) bestimmte den Gesamtkollagengehalt von Corpus und Cervix getrennt und kam auf 297,5 mg/g Trockengewebe in der Cervix und 188,6 mg/g Trockengewebe im Corpus beim nicht graviden Uterus.

Im graviden Uterus beträgt der Kollagengehalt in der Cervix 225,5 mg/g, im Corpus 169,7 mg/g Trockengewebe.

(Die Differenz gravid - nicht gravid ist nicht signifikant bezogen auf g Trockengewicht.)

Während der Gravidität erfolgt also eine Kollagenzunahme um das Sechs- bis Zehnfache, während die Konzentration pro g Feuchtgewicht um ein Drittel abnimmt. Das Kollagen liegt zum größten Teil in der intramolekular vernetzten Form vor mit einem turn-over von ungefähr 100 Tagen, es besteht also ein relativ schneller Umsatz gegenüber Haut- und Knochengewebe, bei denen der turn-over zwei Jahre und länger beträgt (55). Während der Gravidität steigert sich der turn-over auf ungefähr sieben Tage und es erfolgt eine rasche Umwandlung der löslichen Jugendformen in die unlösliche reife Form (wobei die eigentliche Jugendform nur für 24 Stunden als lösliches Kollagen vorliegt (12)). Das Verhältnis von Grundsubstanz zur Fasermenge beträgt 1,5 : 1,0, in der

Gravidität 3:1 (Corpus) bzw. 5:1 (Cervix).

Der Hydroxyprolingehalt des Uterus wurde von
WOESSNER und BREWER 1967 bestimmt (52):

Danach beträgt das Gesamt-Hydroxyprolin	4.590 mcg/g Uterus
lösli.-undiff.Opro	51 mcg/g Uterus
diff.peptid-geb.	6 mcg/g Uterus
Freies Opro	44 mcg/g Uterus
	± 1 %

(alle Werte bezogen auf Trockengew.)

Während der Schwangerschaft müssen Veränderungen im Uterus ablaufen, die eine Zunahme des Uterusinnenvolumens auf das 800fache (400 - 2.000) ohne wesentliche Zunahme des intrauterinen Druckes gestatten (5, 24). Es erfolgt eine Gewichtszunahme von 805 g (von 75 g auf 880 g (55)), die sich aufteilt auf 135 g Trockensubstanz und 670 g Wasser.

Dagegen soll nach MORRIONE and SEIFTER (24) der Wassergehalt beim nichtgraviden Uterus mit ungefähr 70% konstant bleiben.

Es erfolgen schwangerschaftsspezifische Umwandlungen des Bindegewebes der Uteruswand, wahrscheinlich durch Veränderungen der Interstitiellen Grundsubstanz (5).

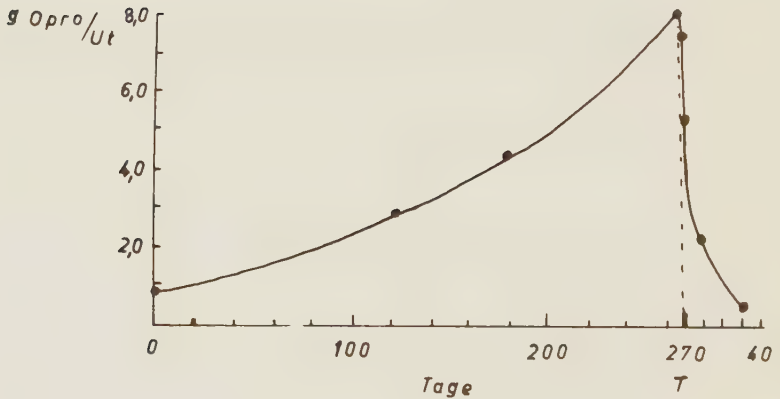
I.4.2 Involution

Die postpartale Involution ist bezüglich der Bindegewebsresorption einer der schnellsten Prozesse, die in der Biologie bekannt sind.

Innerhalb der kurzen Zeit von zwei Wochen wird abgebaut, was während 38 Wochen aufgebaut wurde. Dieser

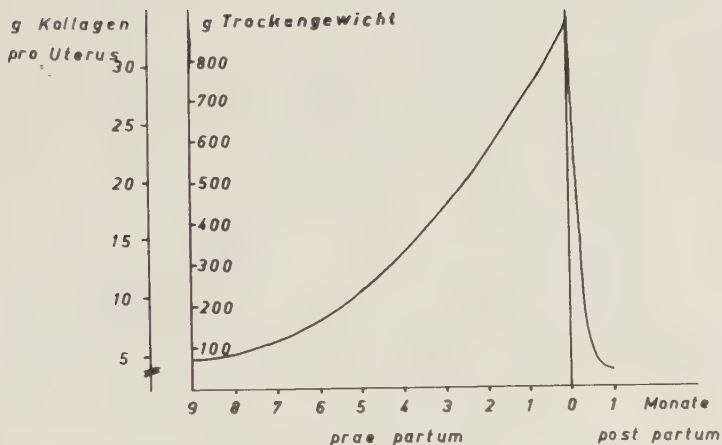
ausgeprägte Abbau auch von reifem Kollagen findet sich nach den heutigen Erfahrungen auch bei Entzündungen und Tumoren.

Nach MORRIONE und SEIFTER (24) soll der Abbau 14 Std. nach der Geburt beginnen und acht bis elf Tage post partum bereits soweit fortgeschritten sein, daß nur noch 75% des Kollagengehaltes am Geburtstermin vorhanden sind (5, 52).



Veränderungen des Hydroxyprolingehaltes des menschlichen Uterus während Schwangerschaft und postpartaler Involution.

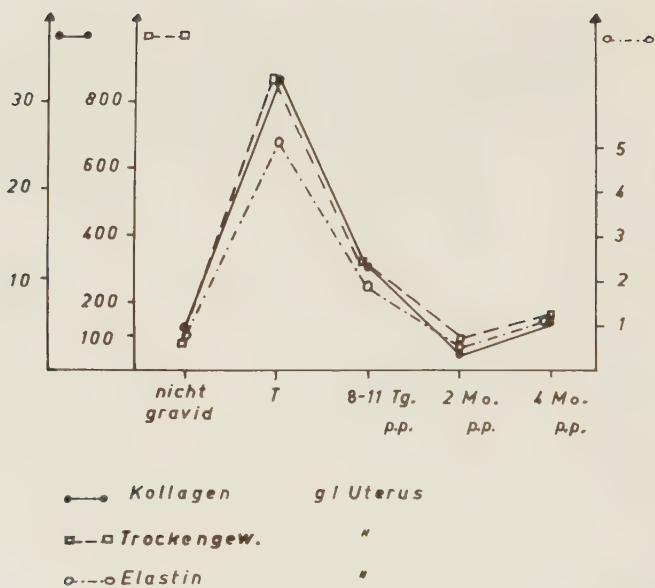
Nach: MORRIONE, T.G. and S.SEIFTER (24)



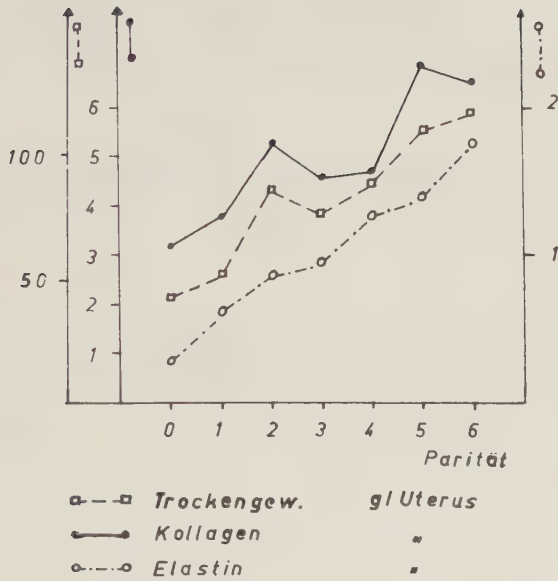
Wachstum und Involution des menschlichen Uterus
gezeigt am Kollagengehalt und Trockengewicht des
Uterus.

Nach: WOESSNER, B.J. jr. 1968 (56)

Nach vollendeter Involution kehrt der Uterus nicht zu seinem ursprünglichen Gewicht zurück, sondern unterschreitet es zunächst (Hyperinvolution), so daß er erst vier Wochen post partum sein ursprüngliches Gewicht erhält (gezeigt am Rattenuterus) und es später sogar überschreitet. So nimmt der Uterus mit jeder Parität an Masse, an g Kollagen/Uterus und g Elastin/Uterus zu.



Nach: WOESSNER, B.J. jr. and T.H.BREWER 1963 (53)



Nach: WOESSNER, B.J.jr. and T.H.BREWER 1963 (53)

Trotz zahlreicher Untersuchungen konnte beim Menschen keine Kollagenase als auslösender Faktor für die gesteigerte Involution gefunden werden.

Morphologisch fanden sich im Elektronenmikroskop makrophagen-ähnliche Zellen, die zahlreiche Vakuolen mit Fragmenten enthielten, welche als Kollagen identifiziert wurden.

Danach schien wahrscheinlich, daß die Lysosomen die phagocytierten Kollagenfibrillen aufnehmen, um sie weiter abzubauen.

Es stellte sich die Frage, ob es noch andere Enzyme außer der Kollagenase gibt, die das native Kollagen anzugreifen vermögen (Kollagenase vermag als einziges Enzym Kollagen in nativem Zustand bei neutraler Reaktion abzubauen).

Zur Diskussion über den enzymatischen Abbau stehen im wesentlichen die Theorien von CRETIVS, SCHAUB und WOESSNER zur Verfügung (4, 5, 40, 53, 55):

CRETIVS (1966) glaubt, daß das Bindegewebe der Uteruswand schwangerschaftsspezifischen Umwandlungen unterliegt, die ihren Ausdruck finden in einer Veränderung der interstitiellen Grundsubstanz. Diese Veränderungen sollen hervorgerufen sein durch ein noch unbekanntes Agens, das auf den Stabilisator der kollagenen Fasern wirkt (Mukopolysaccharide?). Ein saures Kathepsin soll nunmehr die Möglichkeit haben, das Kollagen anzugreifen. Der Abbau erfolgt durch Prolinase (Iminopeptidase) und Prolidase (Imidopeptidase).

Nach SCHAUB (1965) sollen wahrscheinlich gewebeeigene Hemmfaktoren gegen die Proteolyse im nicht-garviden Uterus bestehen, die aber schon während der Gravidität unwirksam zu werden beginnen.

WOESSNER (1965, 1968) untersuchte den Enzymgehalt des Uterus genauer und fand, daß der Uterus hinsichtlich seiner Enzymaktivität im Ruhezustand relativ inaktiv ist.

An Enzymen konnte der Autor nicht nur eine hohe Konzentration an saurem Kathepsin nachweisen, sondern auch aufzeigen, daß β -Glucuronidase, β -Galactosidase, saure Phosphatase und Desoxyribonuclease II vorhanden waren, deren Aktivität zum Teil höher als in der

Leber war. Lokalisiert sind diese Enzyme in der Lysosomenfraktion.

Die Konzentration an Kathepsin und β -Glucuronidase nimmt während der Schwangerschaft ab und steigt auf das Drei- bis Vierfache während der Involution. Die Konzentration von β -Galactosidase und saurer Phosphatase bleibt während der Schwangerschaft gleich, steigt aber während der Involution auf das Zwei- bis Dreifache an.

Alle vier Enzyme erhöhen ihre Konzentration während der ersten vier Tage post partum linear und erreichen ihr Maximum, wenn das Uterusgewicht und der Kollagengehalt an ihrem niedrigsten Punkt sind.

(Anstieg der Gesamtaktivität in der Lysosomenfraktion und im Gewebe während der Involution.)

Alle diese Enzyme vermögen jedoch nicht, natives Kollagen anzugreifen.

WOESSNER postulierte daher die Möglichkeit einer erhöhten Löslichkeit, wahrscheinlich durch Aufhebung gewisser Hemmer oder auf Grund von Veränderungen der Grundsubstanz. Wenn Kollagen "löslich" gemacht ist, kann es bei 37° C denaturiert werden. Saures Kathepsin (pH 3,5) vervollständigt den Abbau zu Peptiden. Das nunmehr entstandene "Prokollagen" ist den unspezifischen Proteinasen zugänglich.

Der Abbau schließlich zu den Aminosäuren wird wahrscheinlich von zwei Peptidasen (Prolinase, Prolidase) vorgenommen, die in hoher Konzentration im Uterus vorkommen.

Dieser Abbau zu Aminosäuren läßt sich zeigen durch den hohen Anteil an freiem Hydroxyprolin während der

Involution (51). Dies Hydroxyprolin gelangt in das Serum und erhöht den Serumspiegel.

Ein geringer Teil wird im Urin ausgeschieden, in einer Größenordnung von weniger als 15% (50). Eine geringe Menge, die im Urin als Opro-Peptid erscheint, läßt die Wahrscheinlichkeit offen, daß sie aus anderen Kollagen-pools stammt, die ebenfalls unter dem Einfluß der hormonalen Veränderungen stehen (31).

Von dem im Serum befindlichen Hydroxyprolin sind weniger als 5% im Peptid gebunden. Das nichtlösliche Hydroxyprolin beträgt < 2 mcg/ml. Somit macht das freie Hydroxyprolin den größten Teil des Serum-Opros aus.

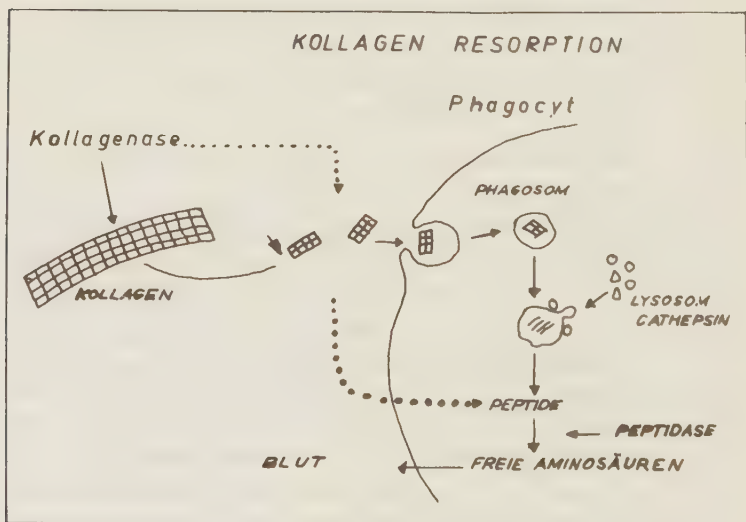


Illustration des wahrscheinlichen Kollagenabbaues im Uterus während der Involution
Nach: WOESSNER, B.J. jr. 1968 (56)

WOESSNER (51) untersuchte den Hydroxyprolingehalt im Serum von Ratten und konnte zeigen, daß hier kein "peak" wie bei Untersuchungen im Uterus auftrat, sondern eine signifikante Ausscheidung während der Involutionsperiode erfolgte.

Er bestimmte die Serum-Hydroxyprolin-Konzentration im Zeitraum von 0 - 96 Std. post partum mit $8,02 \pm 2,18$ mcg/ml Serum und im Zeitraum von > 96 Std. post partum mit $6,50 \pm 1,37$ mcg/ml Serum mit einer Signifikanz von $p < 0,01$.

Gehemmt werden kann die Involution durch eine hohe Oestrogenkonzentration, die aber physiologischerweise während der Involution durch die Lactation verhindert wird (Hyperinvolution). Fehlt die Lactation, so steigt der Oestrogenspiegel und die Involution wird gehemmt.

2.0 Material und Methode

2.1 Allgemeines zur Methode

Die erste Mikromethode zur Bestimmung des Hydroxyprolins und Prolins wurde 1933 von LANG angegeben (20). Er verwendete Hypochlorid zur Abspaltung des CO_2 und zur gleichzeitigen Dehydrierung und nahm an, daß dabei N-Oxypyrrolin entstehen würde, das sich mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (p-DMABA) in saurer Lösung zu einem rotvioletten Farbstoff kondensieren läßt.

Korrigiert wurde diese Methode von WALDSCHMIDT-LEITZ und AKABORI (48), die nachweisen konnten, daß die LANG'sche Methode nur Hydroxyprolin erfaßt und daß bei der Einwirkung von Hypochlorid nicht Oxypyrrolin, sondern Pyrrol als Endprodukt entsteht, das wiederum nur aus Hydroxyprolin und nicht aus Prolin entstehen kann.

Eine weitere zuverlässige Methode entwickelten NEUMANN und LOGAN 1959 (27), die aber in ihrem Aufbau zu umständlich war und daher von STEGEMANN (1958) modifiziert wurde (38).

Bei dieser Methode wurde die Destillation umgangen und ein anderes Oxydationsmittel gewählt (entsprechend NEUMANN und LOGAN). Das Verfahren ermöglicht es, ohne Störung durch andere Aminosäuren 2 - 40 mcg bzw. 0,5 - 12 mcg Hydroxyprolin zu bestimmen.

Hydroxyprolin wird hier in einem schwach sauren Puffer (Acetat-Citrat-Puffer, pH 6,0) durch Chloramin T in Pyrrol umgewandelt (Oxydation) und dies in starker Perchlorsäure mit p-Dimethylaminobenzaldehyd umgesetzt (Perchlorsäure zersetzt das überschüssige Chloramin T und bereitet damit die Komplexbindung mit dem Farbstoff vor).

Da aber die Untersuchungen im Harn durch unspezifische Chromogene gestört wurden, entwickelten STALDER und STEGEMANN (44) ihre Methode weiter, indem sie zur Entfernung interferierender Substanzen eine Vorbehandlung an Austauschersäulen vornahmen (46).

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde die Methode nach STEGEMANN (38), modifiziert nach RAUSKOLB (35) auf Grund der praktischen und schnellen Durchführung angewandt.

2.2. Patientengut

Es wurden in einem Zeitraum von einem halben Jahr 46 Patientinnen im Alter von 17 - 46 Jahren untersucht. Die Aufteilung war wie folgt: 26 normale Schwangerschaften, zwölf Patientinnen mit Gestose, vier Patientinnen mit klinisch gesichertem Diabetes mellitus und vier Patientinnen, bei denen der Uterus unter der Geburt erheblich traumatisiert wurde durch Sectio, Nachcurretage und manuelle Placentalösung. Fälle von Puerperalinfektionen, die in diesem Zusammenhang besonders interessant gewesen wären, traten in dem angegebenen Zeitraum, entsprechend der niedrigen Quote an der Giessener Universitäts-Frauenklinik, nicht auf.

2.3 Gewinnung des Serum

Zur Untersuchung wurde Serum verwandt. Das Serum wurde durch hochtouriges Zentrifugieren (ca 1.500 g) aus ungefähr 5 ml Venenblut gewonnen. Das Blut wurde während der stationären Behandlung der Patientinnen, die sich im Durchschnitt über fünf Tage erstreckte (3 - 12 Tage), täglich zur selben Uhrzeit entnommen.

Außerdem wurden 28 Patientinnen, deren Ergebnisse statistisch ausgewertet wurden, 14 Tage post partum und sechs Wochen post partum zur Blutentnahme bzw. Nachuntersuchung einbestellt.

Bei drei Patientinnen wurde dreimal am Tag (8, 14, 20 Uhr) zu verschiedenen Zeitpunkten (ante partum, 1.Tag p.p., 5.Tag p.p.) Blut entnommen, um ein Tagesprofil des Serum-Hydroxyprolinspiegels zu erhalten.

2.4. Hydroxyprolinbestimmung

Als die für die gegebenen Verhältnisse optimalste Bestimmung wurde die von STEGEMANN beschriebene und nach RAUSKOLB modifizierte Methode angewandt (s.o.).

2.4.1 Reagenzien

1. 0,05 m Chloramin T Lösung: (Merck 2426)

2,82 g p-Toluolsulfonchloramid-Natrium p.a. werden in 40 ml kaltem Aqua dest. gelöst, 60 ml dest. Methylglycol und 100 ml Acetat-Citrat-Puffer zugegeben und geschüttelt.

(Haltbar in brauner Flasche und 4°C: 7 Tage)

2. Acetat-Citrat-Puffer (pH 6,0):

In 500 ml Aqua dest. werden gelöst: 50,0 g Citronensäure • 1 H₂O p.a. (Merck 244), 12 ml Eisessig (20°C), 120 g Natriumacetat • 3 H₂O p.a. (Merck 6265) und 34 g Natriumhydroxyd p.a. (Merck 6495). Die Mischung wird auf 1.000 ml mit Aqua dest. aufgefüllt, mit einigen Tropfen Toluol versetzt und geschüttelt.

3. 4-m Perchlorsäure:

286 ml 70% Perchlorsäure (Merck 519) werden auf 500 ml Aqua dest. aufgefüllt.

4. p-Dimethylaminobenzaldehyd: (Merck 3057)

20 g p-DMABA werden in 200 ml Methylglycol (Merck 858) gelöst.

5. L-Hydroxyprolin-Standardlösung:

5,0 mg L-Hydroxyprolin werden in 100 ml n/1000 HCl gelöst. (L-Opro: Merck 4506)

Die Stammlösung wird für die Eichlösung wie folgt verdünnt:

<u>Standardlösung (ml)</u>	<u>n/1000 HCl (ml)</u>	<u>Konz. (mcg/ml)</u>
0,2	1,8	5
0,4	1,6	10
0,6	1,4	15
0,8	1,2	20
1,0	1,0	25

6. 32%ige Natronlauge zur pH-Einstellung (Merck 5590)

7. 25%ige HCl zur Hydrolyse (Merck 316)

2.4.2 Geräte

1. Photometer EPPENDORF
2. Filter (578 nm)
3. Küvetten
4. Reagenzgläser, Trichter, Filterpapier (Selecta 589/1)
5. Reagenzgläser NS 19, Pyrex, 30 ml mit Stopfen, Alu-Haken und Federn, Ringmarke bei 10 und 20 ml (zur Hydrolyse)
6. Vollpipetten 2 ml
7. Wasserbad 60°C
8. pH-Meter (Auto-Bürette)

2.4.3 Analysengang

1. Vorbehandlung

Das entnommene Venenblut wird sofort hochtourig zentrifugiert, das Serum dekantiert und zur späteren Verwendung bei -20°C aufbewahrt. Bei dieser Temperatur ist das Serum beliebig lange haltbar.

2. Hydrolyse

2,0 ml Serum werden mit 2,0 ml 25%iger Salzsäure in dem Hydrolysekölbchen versetzt und die Kölbchen mittels des Stopfens und des Federringes verschlossen.

Die Hydrolyse erfolgt bei 110°C für die Dauer von 16 - 20 Std., da erst innerhalb dieses Zeitraumes die Hydrolyse vollständig ist, d.h. das Kollagenprotein ganz aufgeschlossen ist und die reaktiven Gruppen am Hydroxyprolinmolekül freigesetzt werden.

3. Filtration

Nach abgeschlossener Hydrolyse wird das so entstandene bräunliche Hydrolysat abgekühlt und die darin enthaltenen braun-schwarzen Flocken (Anteil von Huminkohle) abfiltriert. Die Untersuchungen von RAUSKOLB ergaben, daß bei Filtration durch Aktivkohle der Hydroxyprolinverlust bis zu 20% beträgt, während eine Filtration durch einfache Papierfilter ausreicht und keine Verfälschung der Ergebnisse bringt.

4. pH-Einstellung

Da die Reaktion auf Hydroxyprolin in schwach saurem Milieu durchgeführt wird, muß das stark saure Hydrolysat mittels 32%iger Natronlauge auf pH 6,0 eingestellt werden. Diese Einstellung erfolgte in diesem Fall mit der Auto-Bürette.

Danach wird das Hydrolysat mit Acetat-Citrat-Puffer (pH 6,0) auf 10 ml und 50 ml verdünnt.

5. Reaktion auf Hydroxyprolin

- a) 2,0 ml werden von dem verdünnten Hydrolysat entnommen und mit 1,0 ml Chloramin T versetzt, geschüttelt und 20 min. bei Raumtemperatur stehen gelassen (Oxydation des Hydroxyprolins zu Pyrrol).
- b) Zugabe von 2,0 ml 4m Perchlorsäure, schütteln und 5 min. bei Raumtemperatur stehen lassen (Zersetzung des Chloramin T, damit Stop der Oxydation).
- c) Zugabe von 1,0 ml p-DMABA, schütteln und in einem Wasserbad von 60°C 15 min. erwärmen (Farbkomplexbildung). Danach in Leitungswasser kurz abkühlen und sofort Extinktion messen.

6. Messung der Extinktion

Der rote Farbstoffkomplex hat zwei Absorptionsmaxima bei 530 nm und bei 560 nm. Da dieser Farbstoff instabil ist, muß die Extinktion sofort gemessen werden. Bei dem vorhandenen Filter von 578 nm werden immer noch ausreichende Extinktionen gemessen. Die Messung erfolgt gegen einen Leerwert (2,0 ml n/1000 HCl; 1,0 ml Chloramin T; 2,0 ml Perchlorsäure; 1,0 ml p-DMABA).

Wichtig ist, die Chloramin T-Lösung lichtgeschützt (am besten in einer braunen Flasche), kühl (4°C) und nicht länger als sieben Tage aufzubewahren, da diese Lösung schnell zerfällt. Am besten sollte die Lösung nur in frischem Zustand verwendet werden.

Für die angegebenen Mengen ist eine Standardlösung geeignet, die 5,0 ml L-Hydroxyprolin in n/1000 HCl enthält. So lassen sich mcg Hydroxyprolin mittels der

so erhaltenen Eichkurve aus den Extinktionen ermitteln.

Der Fehler bei dieser Methode der Hydroxyprolinbestimmung soll nach NEUMANN-LOGAN (27) und RAUSKOLB (35) bei $\pm 5\%$ liegen.

3.0 Ergebnisse

Im folgenden werden die Untersuchungsergebnisse besprochen, die sich bei der fortlaufenden Kontrolle der Serum-Hydroxyprolin-Konzentration während der postpartalen Involution ergaben.

Das Kollektiv der insgesamt 46 Patientinnen wurde in vier Klassen aufgeteilt. Zunächst wurden normale Schwangerschaften mit komplikationslosem Wochenbett untersucht, um eine "Normalkurve" zu erhalten. Da es im Bereich des Möglichen lag anzunehmen, daß bei pathologischen Veränderungen der Stoffwechsellage, wie sie z.B. die Gestose und der Diabetes mellitus darstellen (Diabetes: gesteigerter Mucopolysaccharidstoffwechsel), eine Beeinflussung auch des postpartalen Kollagenabbaues eintreten könnte, wurden entsprechende Frauen, die sich zu dieser Zeit in stationärer Behandlung befanden, ebenfalls untersucht. (Die Zahl der Diabetesfälle ist mit vier dementsprechend gering.)

Gleichzeitig wurden vier Frauen untersucht, bei denen der Uterus unter der Geburt zum Teil erheblich traumatisiert wurde (Sectio, Nachcurretage, manuelle Placentauflösung), um die Möglichkeit eines traumatisch bedingten gesteigerten Kollagenabbaues auszuschließen.

Da nach WOESSNER (52) der Uterus mit jeder Parität an Masse, an g Kollagen/Uterus und an g Elastin/Uterus (Bild 3, 4) zunehmen soll und das Kollagen mit zunehmendem Alter einen höheren Vernetzungsgrad erwirbt, also unlöslicher wird, wurden die Frauen, deren Ergebnisse sich statistisch auswerten ließen, nach ihrer Parität und nach ihrem Alter in je vier Klassen aufgeteilt und auch diese Klassen statistisch ausgewertet.

3.1 Statistische Auswertung

(Tab.2-4)

a) Allgemeines

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse wurde insofern erschwert, als mehrere Meßreihen vorlagen, die abhängig waren von dem Faktor "Zeit". Zudem interessierte in diesem Fall der Kurvenverlauf, d.h. ob der Anstieg der Serum-Konzentration innerhalb der ersten 24 Stunden post partum sowie der Abfall nach fünf Tagen bzw. sechs Wochen signifikant war oder aber rein zufällig zustande kam.

Da man mit dem t-Test aber lediglich zwei Meßreihen miteinander vergleichen kann ($k=2$) und die Differenz nur von einem einzigen Faktor verursacht sein darf, muß man sich bei den meisten experimentellen, psychologischen und sozialwissenschaftlichen Untersuchungen eines anderen Verfahrens bedienen. Auch der multiple T-Test ($k > 2$, also mehr als zwei Mittelwerte) darf in diesem Fall nicht angewandt werden, da - abgesehen von der Tatsache -, daß mit steigender Zahl der Mittelwerte (Meßreihen) der Fehler größer wird, ursächlich mehr Faktoren beteiligt sind.

Hier in diesem Fall mußte eine Varianzanalyse vorgenommen werden.

Zur Anwendung kam ein "Ein-Faktoren-Plan mit wiederholten Messungen", den man auch als "multiplen-t-Test für korrelierende Mittelwerte" bezeichnen kann. Dabei geht es um die Zerlegung der Gesamtvarianz in die Einzelvarianz der verschiedenen Faktoren.

Die Gesamtvarianz (= total variation = $SS = \text{sum of square} = SS_{\text{total}}$) ist aufgeteilt in zwei Teile:

1. in eine Funktion der Unterschiede der Mittelwerte aller Personen bzw. Messungen,
oder: Summe der quadratischen Abweichung (der Stichprobenmittelwerte) vom Gesamtmittelwert, d.h. die Summe der Abweichungsquadrate zwischen den Personen bzw. Meßreihen
 $= SS_{\text{between people}}$

2. in eine Funktion der innerhalb eines Individuums bzw. Meßreihe vereinigten Variationen,
oder: Summe der quadratischen Abweichung der Meßwerte zu einem bestimmten Zeitpunkt vom Mittelwert zu diesem Zeitpunkt.
 $= SS_{\text{within people}}$

Daraus ergibt sich für die Gesamtvarianz:

$$SS_{\text{total}} = SS_{\text{between p.}} + SS_{\text{within p.}}$$

oder:

$$SS_{\text{gesamt}} = SS_{\text{zwischen}} + SS_{\text{innerhalb}}$$

Da die Differenz zwischen zwei Beobachtungen sowohl abhängig von den Versuchsbedingungen (treatment effects), als auch von unkontrollierbaren oder "restlichen" (residual) Variationsursachen ist, teilt sich die "within people variation" in zwei Teile, die abhängig sind:

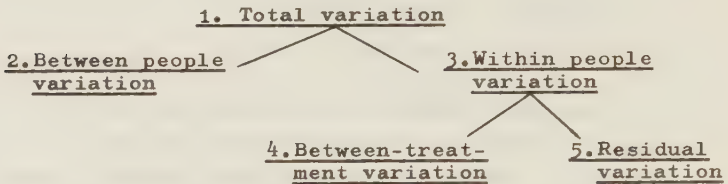
a) von Unterschieden zwischen den Mittelwerten der einzelnen Versuche, also abhängig von Versuchsbedingungen, wie es in diesem Fall der Faktor "Zeit" darstellt. ($= SS_{\text{treat}}$)

und

b) von "restlichen" Variationen (SS_{res}).

Es ist also: $SS_{\text{within}} = SS_{\text{treat}} + SS_{\text{res}}$

Man kann das Prinzip der Varianzanalyse in folgendem Schema darstellen:



(4. und 5. werden benötigt, wenn wiederholte Messungen vorgenommen werden)

Die Ausrechnung erfolgte mit einer Rechenmaschine der Firma OLIVETTI. Das Programm hierfür wurde freundlicherweise von der Psychosomatischen Klinik (Dipl. Psych. BECKMANN) zur Verfügung gestellt.

Die Rechenmaschine druckte entsprechend ihrem Programm (Schema s.o.) vier Gruppen aus:

1. Between people variation (zwischen den Patienten)
 - a) SS = sum of squares = Gesamtvarianz
 - b) df = degree of freedom = Freiheitsgrad
 - c) MS = mean squares = mittlere Quadrate
 - d) F-Wert (F_2 ; P_2)
2. Within people variation (innerhalb der Patienten)
 - SS
 - df
 - MS
 - die sich aufteilt in:
 - a) den Zeitfaktor (SS , df , MS , F) (F_1 ; P_1)
 - b) die restliche Varianz (SS , df , MS)

Somit werden also 14 Werte ausgedruckt.

Wie oben erwähnt, interessierte im vorliegenden Fall die Frage, ob der Verlauf der Kurve (Anstieg, Abfall) signifikant ist und ob die Schwankungsbreite der ermittelten Konzentrationen noch signifikant oder aber nur zufällig ist.

Die erste Frage findet ihre Beantwortung in dem ausgedruckten F-Wert für die Variation "Zeit" und die zweite Frage in dem F-Wert für die Variation "zwischen den Patienten".

Die zum F-Wert zugehörigen p-Werte werden nachgeschlagen.

b) Auswertung

Nach den so erhaltenen Werten ergab sich für die erste Gruppe (normale Schwangerschaften, Gestose, Diabetes, traumatisierende Eingriffe) ein mit $p_1 < 0,001$ signifikanter Kurvenverlauf, d.h. der Verlauf der Kurve und damit der Anstieg und der Abfall ist mit der größtmöglichen biologischen Wahrscheinlichkeit gesichert.

Dasselbe gilt auch für alle Kurven der vier Altersgruppen und der vier Paritätengruppen.

Dagegen ist die Variation zwischen den Patienten, d.h. die Schwankungsbreite der ermittelten Konzentrationen zu einem bestimmten Zeitpunkt mit unterschiedlicher Signifikanz gesichert und zum Teil auch zufällig (p_2).

So ist die Gruppe der normalen Schwangerschaften mit $p_2 < 0,001$ gesichert. Die Gruppe der Gestosen ist mit $p_2 < 0,01$ gesichert, während die Gruppe der Diabetikerinnen und der traumatisierenden geburtshilflichen Eingriffe auf Grund der geringen Fallzahl statistisch nicht signifikant sind und die Schwankungen der Mittelwerte zwischen den Patienten im Bereich des Zufalls liegen.

Betrachtet man die vier Altersgruppen, so ergibt sich ein ähnliches Bild: für alle Gruppen ist der Kurvenverlauf über die Zeit mit $p_1 < 0,001$ statistisch gesichert, während die Variation zwischen den einzelnen Patienten in der ersten Gruppe (17 - 20 J.) bei $p_2 < 0,05$, in der zweiten Gruppe (21 - 25 J.) bei $p_2 < 0,01$ und in der dritten Gruppe (26 - 30 J.) bei $p_2 < 0,001$ liegt. Dagegen ergibt sich die Variation der vierten Gruppe (31 - 47 J.) wiederum auf Grund der geringen Fallzahl als statistisch nicht signifikant.

Entsprechend verhalten sich die nach der Parität eingeteilten Gruppen. Alle Kurvenverläufe über die Zeit sind mit $p_1 < 0,001$ gesichert. Die Variation ist bei den 1. und 2. para ebenfalls mit $p_2 < 0,001$ gesichert. Während die Variation für die 3. und 4. para sich ebenfalls auf Grund der geringen Fallzahl statistisch nicht sichern läßt.

3.2. Fehlerbreite

Zur Kontrolle der in der Literatur angegebenen Fehlerbreite bei der Hydroxyprolinbestimmung, die bei $\pm 5\%$ liegt, wurden sowohl bei den Eichkurven als auch bei dem Hydroxyprolinnachweis im Serum Mehrfachbestimmungen vorgenommen. Bei sämtlichen Untersuchungen wurden routinemäßig stets Doppelbestimmungen durchgeführt, so daß jeder Wert (s.u.) den Mittelwert aus zwei Bestimmungen darstellt.

Bei Doppel- und Mehrfachbestimmungen von Eichkurven als auch von Seren jeweils derselben Patientin wurde eine Fehlerbreite von $\pm 2\%$ bis $\pm 6,5\%$ ermittelt. Die Fehlerbreite (oder der mittlere Fehler) der Einzelwerte von 12 Patientinnen zum selben Zeitpunkt wurde mit $\pm 6\%$ bis $\pm 10\%$ bestimmt.

3.3. Tagesprofil

Wie schon oben erwähnt, wurde den Patientinnen jeden Tag zur selben Zeit Blut abgenommen, um für alle den gleichen Ausgangspunkt zu haben und eventuelle Tagesschwankungen auszuschalten.

Zur Klärung, ob und in welchem Maße der Serum-Hydroxyprolin-Spiegel von unbekannten Faktoren beeinflusst wird, wurde bei drei Patientinnen mit normal verlaufender Schwangerschaft und komplikationslosem Wochenbett dreimal am Tag, nämlich um 8 Uhr, um 14 Uhr und um 20 Uhr Blut abgenommen und untersucht.

Um einen Vergleich zu haben, ob diese Schwankungen abhängig sind vom Zeitpunkt der Schwangerschaft bzw. der Involution, wurde diese dreimalige Blutentnahme bei denselben Patientinnen sowohl ante partum als auch am 2. und 5. Tag post partum vorgenommen (siehe Tab.I).

Die so erhaltenen Serum-Konzentrationen lagen ante partum im Mittel bei 22,3 mcg/ml Serum, am zweiten Tag post partum bei 182,3 mcg/ml und am fünften Tag post partum bei 80,6 mcg/ml Serum und zeigten damit eine dem Zeitpunkt der Involution entsprechende Konzentration, wie unten noch näher ausgeführt werden wird.

Die Mittelwerte aller drei Patientinnen (die wiederum Mittelwerte aus Doppelbestimmungen sind) zu verschiedenen Zeitpunkten wurden miteinander verglichen.

Dabei fanden sich geringe Tagesschwankungen mit einem Höhepunkt um die Mittagsstunden und einen jeweils höheren Abend- als Morgenwert.

Danach lagen nach dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen die Mittagswerte signifikant höher als die Morgenwerte ($2\alpha < 0,02$) und die Abendwerte ($2\alpha < 0,01$). Die Abendwerte waren höher als die Morgenwerte ($2\alpha < 0,05$). (Bild I)

In allen folgenden Fällen wurde das Blut morgens um acht Uhr entnommen.

3.4 Normale Schwangerschaften

(Tab.5)

Von den insgesamt 46 Patientinnen, die untersucht wurden, gehörten 26 Patientinnen zu den klinisch normalen Schwangerschaften mit physiologisch verlaufendem Wochenbett. Da einige Patientinnen sich aus Bettenmangel lediglich drei bis vier Tage in stationärer Behandlung befanden und zum Teil nicht nach zwei bzw. sechs Wochen zur erneuten Blutentnahme einbestellt werden konnten, ließen sich nur die Ergebnisse von zwölf Patientinnen über den ganzen Zeitraum auswerten.

Die gefundenen Serum-Hydroxyprolin-Konzentrationen wurden im Kurvenverlauf dargestellt. Die Werte der Patientinnen, die sich auf Grund der kurzen Behandlungs- bzw. Überwachungszeit nicht statistisch auswerten ließen, reihten sich jedoch in den Kurvenverlauf mit ein.

Bei diesen normal verlaufenden Schwangerschaften lag die Serum-Hydroxyprolin-Konzentration ante partum bei 13,4 mcg/ml (3 - 27) und stieg innerhalb eines Zeitraumes von 24 Stunden post partum auf eine Konzentration von 179,2 mcg/ml (156 - 220), also um nahezu das 13fache. Die ersten Werte post partum

wurden nach frühestens zwölf Stunden ermittelt und lagen in entsprechenden Größenordnungen (sie sind in den obigen Werten enthalten).

Auch 48 und 76 Stunden post partum, also am zweiten und dritten Tag post partum lagen die Konzentrationen noch bei 178,0 mcg/ml und 171,0 mcg/ml (149 - 202 / 140 - 222).

Aber bereits am vierten Tag post partum fand sich ein leichter Abstieg auf 158,9 mcg/ml (125 - 195), der mit jedem weiteren Tag zunahm und schließlich nach 14 Tagen post partum bei 49,4 mcg/ml (36 - 78) lag, um dann sechs Wochen post partum mit 27,9 mcg/ml (19 - 52) wieder zum Normbereich abzufallen.

Damit ergab sich also zusammenfassend ein Anstieg der Serum-Hydroxyprolin-Konzentration um das 13fache vom Zeitpunkt der Geburt bis 24 Stunden post partum und ein Abfall der Konzentrationen nach 14 Tagen post partum um nahezu 75%, während die Konzentrationen sechs Wochen post partum wieder den Normalbereich erreichte.

Die Werte der einzelnen Patientinnen zum selben Zeitpunkt lagen in einer Schwankungsbreite von 50 - 70 mcg/ml Serum. Es wurde für jeden Zeitraum der Mittelwert und daraus die Standardabweichung " s ", d.h. der mittlere Fehler der Einzelwerte, sowie die Standardabweichung des Mittelwertes " s_m ", d.h. der mittlere Fehler des Mittelwertes berechnet.

Die Standardabweichung lag bei diesen Fällen und dasselbe galt für fast alle anderen Kurven zwischen 12% und 20%, also zwischen $\pm 6\%$ und $\pm 10\%$.

Der Kurvenverlauf und die Variation der Meßwerte zu einem Zeitpunkt wurde mit $p < 0,001$ statistisch gesichert (s.o.).

3.5 Gestosen

(Tab.6)

Es wurden insgesamt 12 Patientinnen untersucht, die eine klinisch manifeste Gestose hatten. Die Ergebnisse von neun Patientinnen dieses Kollektivs konnten statistisch ausgewertet werden.

Die Konzentration ante partum betrug hier 14,3 mcg/ml (4 - 24) und stieg am ersten Tag post partum auf 175,0 mcg/ml (128 - 203), um danach stetig abzunehmen: am zweiten Tag post partum auf 162,0 mcg/ml (100 - 207), am dritten Tag auf 158,9 mcg/ml (112 - 185), am vierten Tag auf 146,2 mcg/ml (94 - 179) und am fünften Tag auf 129,0 mcg/ml (106 - 170).

14 Tage post partum wurde die Konzentration bei 40,7 mcg/ml (32 - 48) und sechs Wochen post partum wieder bei 14,1 mcg/ml (9 - 21) ermittelt.

Die Tendenz des Abstieges ab dem vierten bis fünften Tag post partum war auch hier wieder deutlich zu sehen, allerdings erschien sie gegenüber der Normalkurve bereits ab dem ersten Tag post partum progredient zu sein. Die Standardabweichung lag bei diesen Fällen zwischen $\pm 2,5\%$ und $\pm 20\%$.

Die Streubreite der Einzelwerte war also etwas größer, als die Streubreite bei den normalen Schwangerschaften, was in Einklang mit der geringeren statistischen Signifikanz von p_1 ($< 0,01$) gebracht werden konnte. Der geringgradig niedrigere Serum-Spiegel erklärte sich durch die Tatsache, daß in der Gruppe der Gestosen vorwiegend Frauen waren, die auf Grund ihres Alters und ihrer Parität (s.u.) einen niedrigeren Serum-Spiegel hatten als die Frauen mit normaler Schwangerschaft.

Für beide Gruppen konnte die maximale Serum-Konzentration am ersten Tag post partum errechnet werden.

3.6 Diabetes mellitus

(Tab.7)

Untersucht wurden vier Frauen mit klinisch gesichertem Diabetes mellitus. Der Serum-Hydroxyprolin-Spiegel dieser vier Frauen konnte später auch statistisch ausgewertet werden.

Der Mittelwert für die Serum-Konzentration ante partum lag bei 16,2 mcg/ml Serum (10 - 25). Die Werte post partum wurden am ersten Tag mit 198,0 mcg/ml (190 - 211), am zweiten Tag mit 192,8 mcg/ml (187-204), am dritten Tag mit 187,2 mcg/ml (172 - 218), am vierten Tag mit 176,9 mcg/ml (172 - 197) und am fünften Tag mit 168,0 mcg/ml (145 - 191) ermittelt.

Zwei Wochen und sechs Wochen post partum lagen die Konzentrationen bei 62,4 mcg/ml (57 - 68) und 18,5 mcg/ml (15 - 21).

Gegenüber den Werten, die für die normal verlaufende Schwangerschaft gefunden wurden, lagen die Werte der Diabetikerinnen um 10 - 20 mcg/ml Serum höher und waren damit ebenfalls höher als die der an Gestose erkrankten Frauen.

Die Schwankungsbreite der vier Patientinnen war insgesamt geringer, was aber unter anderem auch der kleinen Fallzahl zugute gehalten werden muß. Ebenfalls der kleinen Fallzahl zugute gehalten werden muß die Tatsache, daß die Variation zwischen den Patientinnen, d.h. die Konzentrationen zu einem bestimmten Zeitpunkt statistisch nicht signifikant waren.

Der Kurvenverlauf war jedoch identisch mit der Normalkurve und ebenfalls mit höchster statistischer

Wahrscheinlichkeit gesichert.

Auch hier ließ sich wieder ein "peak" am ersten Tag post partum nachweisen, der von einem Konzentrationsabfall, der besonders ab dem vierten bis fünften Tag post partum zu erkennen war, gefolgt wurde.

Die erhöhte Serumkonzentration wird man nicht allein dadurch erklären können, daß es vorwiegend jugendliche Patientinnen und höchstens II.para waren, vielmehr scheint beim Diabetes tatsächlich ein erhöhter Abbau stattzufinden, wie es auch beim Mucopolysaccharidstoffwechsel der Fall ist.

3.7 Traumatisierende geburtshilfliche

Eingriffe

(Tab.8)

Zu dieser Gruppe von Patientinnen gehörten diejenigen, bei denen der Uterus unter der Geburt durch Sectio, Nachcurretage und manuelle Placentallösung traumatisiert wurde.

Insgesamt vier Patientinnen konnten untersucht werden, von denen sich aber lediglich die Ergebnisse dreier Patientinnen statistisch auswerten ließen, da sich die vierte Patientin nur kurz in stationärer Behandlung befand.

Die zugehörigen Werte wurden ermittelt mit 16,0 mcg/ml (10 - 21) ante partum und mit 174,3 mcg/ml (142-210) am ersten Tag post partum, am zweiten Tag mit 176,7 mcg/ml (151 - 190), am dritten Tag mit 187,8 mcg/ml (181 - 201), am vierten Tag mit 153,5 mcg/ml (131 - 168), am fünften Tag mit 123,4 mcg/ml (102 - 150) und mit 48,2 mcg/ml (45 - 52) und 10,0 mcg/ml (9 - 11) zwei und sechs Wochen post partum.

Die gefundenen Werte lagen damit im Bereich der Grenzen, die auch für die normalen Schwangerschaften gefunden wurden und ergaben einen analogen Kurvenverlauf, der ebenfalls statistisch mit höchster Wahrscheinlichkeit gesichert werden konnte.

Die Schwankungsbreite lag im Bereich von $\pm 10\%$, also in dem Bereich, der auch für fast alle anderen Gruppen gefunden wurde.

Lediglich der Kurvenverlauf stimmte insofern nicht mit den ersten drei Tabellen überein, als hier der peak auf den dritten Tag post partum verschoben war. Außerdem war der Konzentrationsabfall stärker ausgeprägt als der Konzentrationsanstieg vom ersten Tag post partum an.

Wenn man berücksichtigt, daß die Patientinnen ihrem Alter nach eine geringere Serum-Konzentration haben müßten als normal wäre, so erscheint hier der Kollagenabbau sowohl verstärkt als auch verzögert.

3.8 Altersvergleich

(Tab.9 - 12)

28 Patientinnen wurden entsprechend ihrem Alter in vier Gruppen unterteilt:

17 - 20 Jahre	6 Patientinnen
21 - 25 Jahre	7 Patientinnen
26 - 30 Jahre	8 Patientinnen
31 - 47 Jahre	4 Patientinnen

Diese Unterteilung wurde vorgenommen, um nachzuweisen, ob das zunehmende Lebensalter der Patientin und damit auch die zunehmende Unlöslichkeit des Uteruskollagens, bedingt durch den steigenden Ver-

netzungsgrad, sich beim postpartalen Kollagenabbau widerspiegelt und sich ein dementsprechend langsamerer, schnellerer oder auch gesteigerter Abbau darstellen läßt.

Alle vier so erhaltenen Kurven haben ebenfalls den charakteristischen Verlauf. Jedoch zeigen sie untereinander geringe Abweichungen.

Die Werte der 17-20jährigen lagen ante partum bei 19,0 mcg/ml (4 - 25), am ersten Tag post partum bei 184,1 mcg/ml (161 - 194). Dann stieg die Konzentration am zweiten Tag auf 188,9 mcg/ml (165 - 207), sank am dritten Tag wieder auf 184,5 mcg/ml (140 - 218) und nahm dann vom vierten Tag endgültig und stetig ab: 164,0 mcg/ml (125 - 197), am fünften Tag 146,6 mcg/ml (107 - 191) und schließlich 52,2 mcg/ml (48 - 63) und 27,4 mcg/ml (20 - 31) zwei und sechs Wochen post partum. Es ließen sich hier also Konzentrationen nachweisen, die insgesamt um ca 10 mcg/ml Serum höher lagen als die Konzentrationen der Normalkurve, wobei das Maximum am zweiten Tag post partum gemessen wurde, aber noch über den ersten und dritten Tag hinausreichte.

Die Gruppe der 21-25jährigen Patientinnen lag über die ganze Zeit um ca 20 mcg/ml Serum niedriger und zeigte eine größere Streubreite als die Gruppe der jüngeren Patientinnen. Die Konzentrationen lagen damit ebenfalls unter denen der Normalkurve.

Das Maximum wurde am ersten Tag post partum, der Abfall am vierten Tag post partum gemessen.

Ansteigende Werte zeigten dann wieder die 26-30jährigen, die über den Werten der 21-25jährigen lagen, aber doch noch etwas unter denen der 17-20jährigen. Diese hatten jedoch eine geringere Schwan-

kungsbreite und eine bessere statistische Signifikanz.

Der peak lag hier am ersten Tag post partum höher als der der vorangegangenen beiden Gruppen.

Bei den 31-47jährigen nahmen die Konzentrationen wieder ab und lagen mit geringer Schwankungsbreite im Bereich der 21-25jährigen Patientinnen, wobei sich das Maximum über den ersten und zweiten Tag post partum erstreckte.

3.9 Vergleich der Paritäten

(Tab.13-16)

Zur Überprüfung der in der Literatur angegebenen Ergebnisse über die Zunahme der Masse des Uterus, des Gehaltes an g Kollagen/Uterus und g Elastin/Uterus mit jeder Schwangerschaft (53) wurden die Patientinnen je nach ihrer Parität in vier Gruppen eingeteilt:

I.para	9 Patientinnen
II.para	8 Patientinnen
III.para	3 Patientinnen
IV.para	2 Patientinnen

Für die I.parae lagen die Konzentrationen ante partum bei 16,0 mcg/ml (4 - 25) und post partum am ersten Tag bei 172,0 mcg/ml (128 - 203), am zweiten Tag bei 166,0 mcg/ml (100 - 207), am dritten Tag bei 159,5 mcg/ml (112 - 218), am vierten Tag bei 147,3 mcg/ml (94 - 197), am fünften Tag bei 136,1 mcg/ml (106 - 191) und zwei und sechs Wochen post partum bei 46,8 mcg/ml (32 - 63) und 20,9 mcg/ml (9 - 32).

Es zeigte sich hier also ein Gipfel von 172,0 mcg/ml Serum am ersten Tag post partum und ein kontinuier-

licher Konzentrationsabfall. Die Konzentrationen lagen um 6 - 10 mcg/ml Serum niedriger als die der Normalkurve. Die Schwankungsbreite lag über $\pm 10\%$.

Jedoch ließen sich sowohl die Variation zwischen den Patienten als auch über die Zeit mit der größtmöglichen statistischen Wahrscheinlichkeit sichern.

Für die II.parae waren die Konzentrationen um 10 - 18 mcg/ml Serum höher als die der I.Parae. Auch die Schwankungsbreite war geringer. Gegenüber der Normalkurve bestand kaum ein Unterschied, lediglich einige Werte lagen etwas höher.

Der Gipfel lag mit 182,5 mcg/ml Serum am ersten Tag post partum um 10 mcg/ml höher als bei den I.parae.

Für die III.parae ergab sich ein etwas anderer Kurvenverlauf. Die Konzentrationen lagen insgesamt niedriger als die der II.parae und am ersten und zweiten Tag post partum auch niedriger als die der I.parae. Jedoch überschritten sie die Konzentrationen der I.parae am dritten und vierten Tag post partum um 10 mcg/ml, um danach wieder um ca 10 mcg/ml unter die Konzentrationen der I.parae abzufallen. Der Gipfel war hier also zeitlich etwas verlagert. Die Konzentrationen lagen im Bereich der Normalkurve. Die Schwankungsbreite war insgesamt geringer als die der I. und II.parae, wahrscheinlich bedingt durch die geringe Fallzahl, die auch Ursache war für die fehlende statistische Signifikanz der Variation zwischen den Patientinnen.

Die beiden IV.parae, die untersucht werden konnten, zeigten ein ähnlich verlagertes Kurvenbild. Auch hier war der peak vom ersten Tag post partum verschoben und lag in diesem Fall am zweiten Tag. Danach fielen

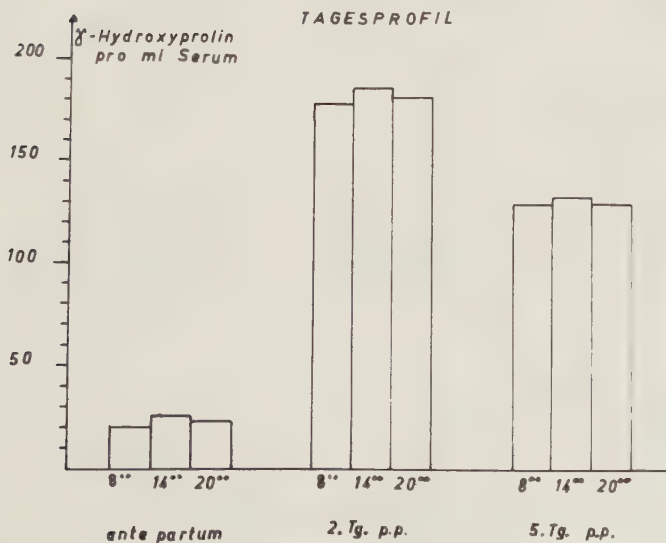
die Konzentrationen kontinuierlich und schneller ab als es bei den ersten drei Gruppen der Fall war. Die Konzentrationen lagen bis zum vierten Tag post partum im Bereich der Konzentrationen der I.parae. Lediglich am zweiten Tag post partum, also zum Zeitpunkt des maximalen Anstieges, lag die Konzentration mit 189,0 mcg/ml (185, 193) höher als alle anderen der drei vorangegangenen Gruppen.

4.0 Zusammenstellung von Abbildungen
und Tabellen

Tagesprofil

		M_1	M_2	M_3	M_S
ante partum	8 Uhr	23	21	16	20
	14 Uhr	24	26	25	25
	20 Uhr	23	24	20	22
2.Tag p.p.	8 Uhr	182	176	179	179
	14 Uhr	190	185	184	186
	20 Uhr	184	182	180	182
5.Tag p.p.	8 Uhr	82	79	76	79
	14 Uhr	82	87	79	83
	20 Uhr	81	82	77	80

Tabelle 1 (Angabe in mcg/ml Serum)
 $M_{1,2,3}$ = Mittelwerte aus Doppelbestimmungen
 M_S = Mittelwert aus M_{1-3}



VARIANZANALYSE

Tabelle 2

Quelle	SS	df	MS	F	P
Normale Schwangerschaften					
zwischen den Pat.	7056,780	11	641,525	3,561	0,001
innerhalb der Pat.	322989,000	60	5383,150		
Zeit	313081,610	5	62616,322	347,609	0,001
Rest	9907,390	55	180,134		
Gestose					
zwischen den Pat.	8342,704	8	1042,838	3,436	0,01
innerhalb der Pat.	244476,500	45	5432,811		
Zeit	232338,315	5	46467,663	153,129	0,001
Rest	12138,185	40	303,454		
Diabetes					
zwischen den Pat.	738,458	3	246,152	2,729	n.s.
innerhalb der Pat.	141099,167	20	7054,958		
Zeit	139746,375	5	27949,275	309,907	0,001
Rest	1352,792	15	90,186		
Sectio, Curretage, Cerclage u.a.					
zwischen den Pat.	1526,778	2	763,289	2,655	n.s.
innerhalb der Pat.	80517,667	15	5367,844		
Zeit	77642,445	5	15528,489	54,008	0,001
Rest	2875,222	10	287,522		

VARIANZANALYSE

Tabelle 3

Quelle	SS	df	MS	F	p
Alter: 17 - 20 Jahre					
zwischen den Pat.	4218,250	5	843,650	3,285	0,05
innerhalb der Pat.	171504,500	30	5716,816		
Zeit	165084,916	5	33016,983	128,579	0,001
Rest	6419,584	25	256,783		
Alter: 21 - 25 Jahre					
zwischen den Pat.	7219,952	6	1203,325	3,346	0,01
innerhalb der Pat.	173780,334	35	4965,152		
Zeit	162991,428	5	32598,285	90,643	0,001
Rest	10788,906	30	359,630		
Alter: 26 - 30 Jahre					
zwischen den Pat.	4983,979	7	711,997	5,139	0,001
innerhalb der Pat.	245450,834	40	6136,270		
Zeit	240601,938	5	48120,387	347,341	0,001
Rest	4848,896	35	138,539		
Alter: 31 - 47 Jahre					
zwischen den Pat.	617,485	3	205,819	2,387	n.s.
innerhalb der Pat.	93964,167	20	4698,208		
Zeit	92670,875	5	18534,175	214,966	0,001
Rest	1293,292	15	86,219		

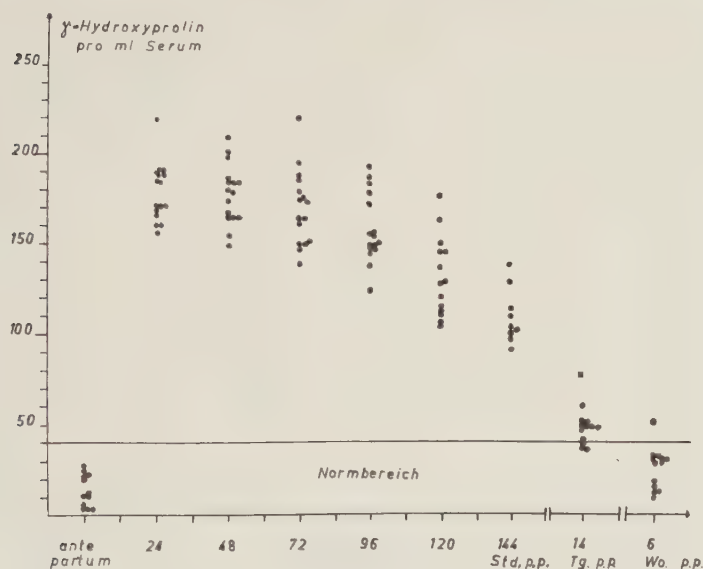
VARIANZANALYSE

Tabelle 4

Quelle	SS	df	MS	F	p
Parität: 1.para					
zwischen den Pat.	10600,666	8	1325,083	4,246	0,001
innerhalb der Pat.	230570,834	45	5123,796		
Zeit	218089,944	5	43617,988	139,791	0,001
Rest	12480,890	40	312,022		
Parität: 2.para					
zwischen den Pat.	8145,813	7	1163,687	7,070	0,001
innerhalb der Pat.	233521,500	40	5838,037		
Zeit	227761,438	5	45552,287	276,790	0,001
Rest	5760,062	35	164,573		
Parität: 3.para					
zwischen den Pat.	132,333	2	66,166	0,590	n.s.
innerhalb der Pat.	82562,167	15	5504,144		
Zeit	81441,833	5	16288,366	145,389	0,001
Rest	1120,334	10	112,033		
Parität: 4.para					
zwischen den Pat.	14,083	1	14,083	0,512	n.s.
innerhalb der Pat.	45182,167	10	4518,216		
Zeit	45044,750	5	9008,950	327,800	0,001
Rest	137,417	5	27,483		

Normale Schwangerschaften

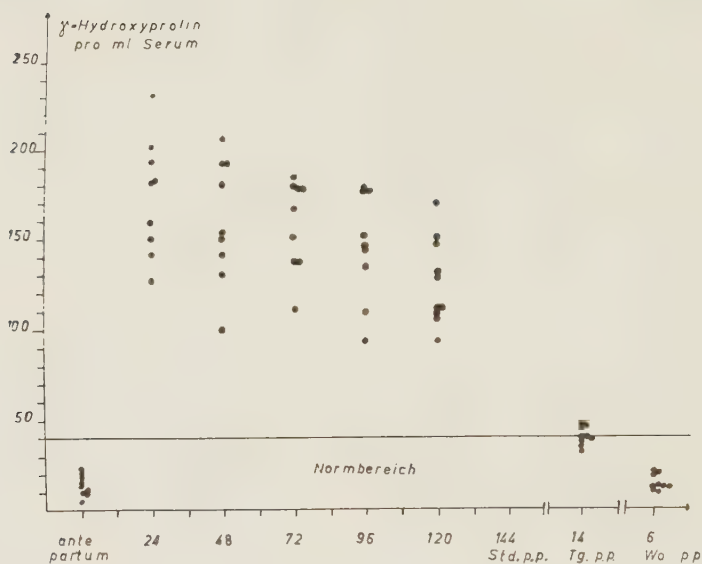
Tabelle 5



Klasse	ante	1. Tg.	2.	3.	4.	5.	14.	6 Wo
Pat.	partum	p.p.	-	-	-	-	-	-
1	11	190	199	186	180	147	50	31
2	19	161	165	175	150	129	61	32
12	21	185	175	140	139	130	49	31
34	22	171	185	162	150	114	49	31
37	24	192	202	189	195	152	52	29
30	27	220	180	165	157	146	78	52
39	5	171	185	176	148	116	42	15
45	4	184	179	152	125	107	51	32
3	3	171	168	222	185	179	48	18
16	3	161	149	147	158	139	37	12
28	10	156	155	165	166	121	36	9
49	12	189	186	174	152	105	40	13

Gestose

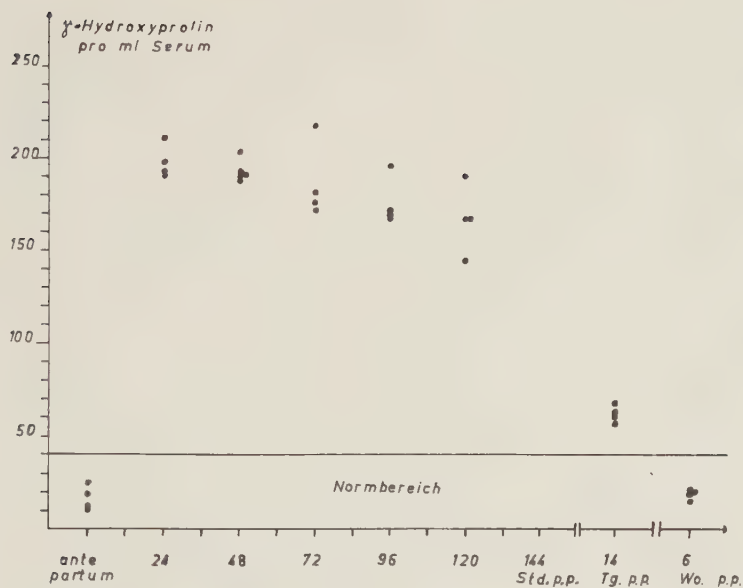
Tabelle 6



Klasse Pat.	ante partum	1. Tg.	2.	3.	4.	5.	14.	6 Wo
4	4	182	154	167	144	147	45	10
15	10	142	100	112	94	106	32	12
18	16	160	151	138	110	109	40	13
26	15	183	193	185	146	112	46	21
29	21	194	207	180	179	170	48	20
31	9	128	131	138	152	151	38	18
33	11	151	142	152	135	112	35	12
38	24	232	194	179	177	128	40	12
46	19	203	181	179	177	132	39	9

Diabetes mellitus

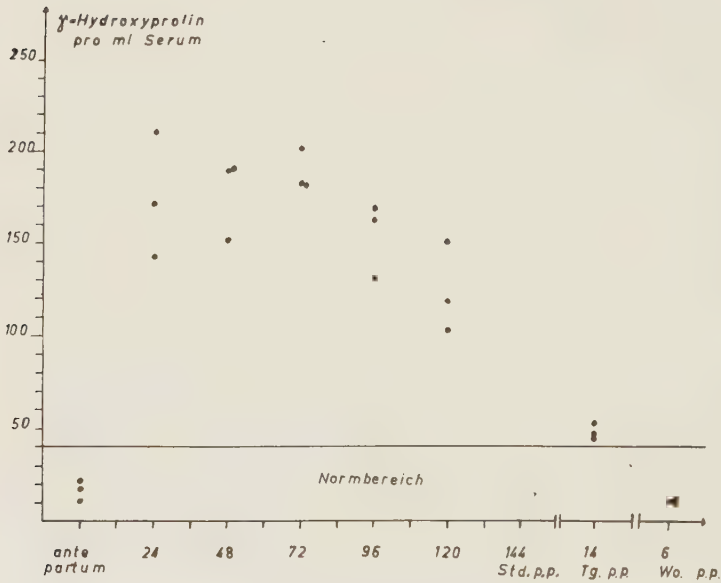
Tabelle 7



Klasse	ante partum	1. Tg. p.p.	2. -	3. -	4. -	5. -	14. -	6 Wo -
Pat.								
13	25	190	204	218	197	192	63	21
23	10	198	190	172	168	145	57	14
24	12	211	191	182	172	168	61	18
35	18	193	187	176	170	168	68	20

Traumatisierende geburtshilfliche Eingriffe

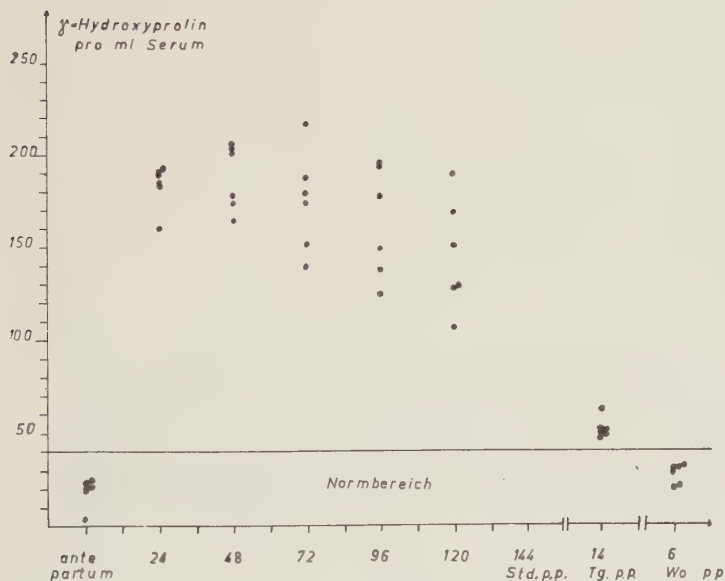
Tabelle 8



Klasse	ante	1. Tg.	2.	3.	4.	5.	14.	6 Wo
Pat.	partum	p.p.	-	-	-	-	-	-
5	10	142	151	201	162	118	52	10
7	17	171	189	182	131	102	47	11
40	21	210	190	181	168	150	45	9

Alter: 17 - 20 Jahre

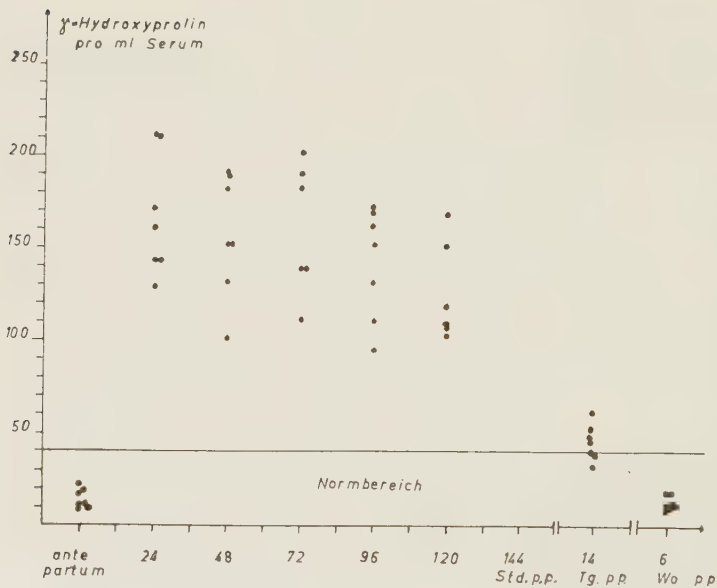
Tabelle 9



Klasse	ante Pat. partum	1.Tg. p.p.	2.	3.	4.	5.	14.	6 Wo
2	19	161	165	175	150	129	50	31
12	21	185	175	140	139	130	49	31
13	25	190	204	218	197	191	63	21
37	24	192	202	189	195	152	52	29
29	21	194	207	180	179	170	48	20
45	4	184	179	152	125	107	48	20

Alter: 21 - 25 Jahre

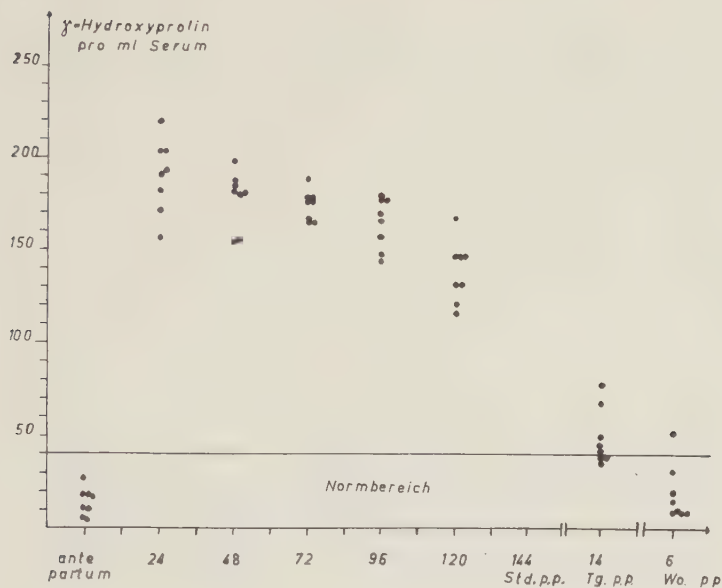
Tabelle 10



Klasse	ante	1. Tg.	2.	3.	4.	5.	14.	6 Wo
Pat.	partum	p.p.	-	-	-	-	-	-
5	10	142	151	201	162	118	52	10
7	17	171	189	182	131	102	47	11
15	10	142	100	112	94	106	32	12
18	16	160	151	138	110	109	40	13
24	12	211	191	182	172	168	61	18
31	9	128	131	138	152	151	38	18
40	21	210	190	181	168	150	45	9

Alter: 26 - 30 Jahre

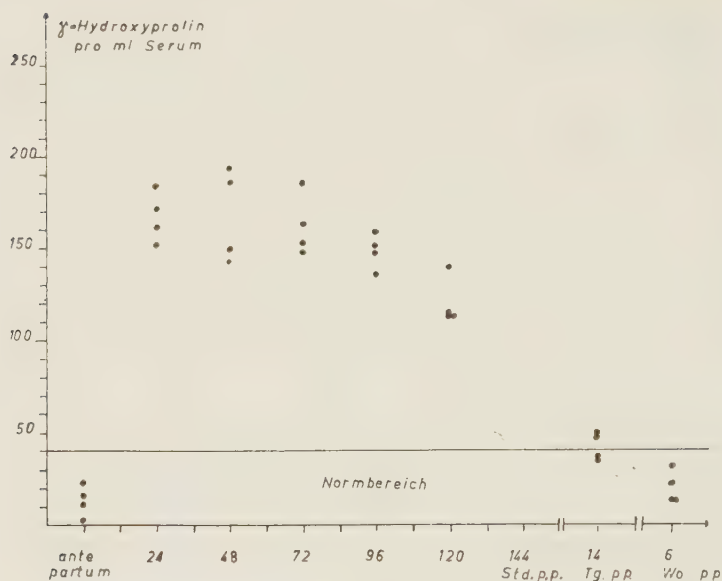
Tabelle 11



Klasse	ante partum	1. Tg. p.p.	2. -	3. -	4. -	5. -	14. -	6 Wo -
1	11	190	199	186	180	147	50	31
4	4	182	154	167	144	147	45	10
28	10	156	155	165	166	121	36	9
30	27	220	180	165	157	146	78	52
35	18	193	187	176	170	168	68	20
39	5	171	185	176	148	116	42	15
46	19	203	181	179	177	132	39	9
47	18	200	182	180	179	134	38	10

Alter: 31 - 47 Jahre

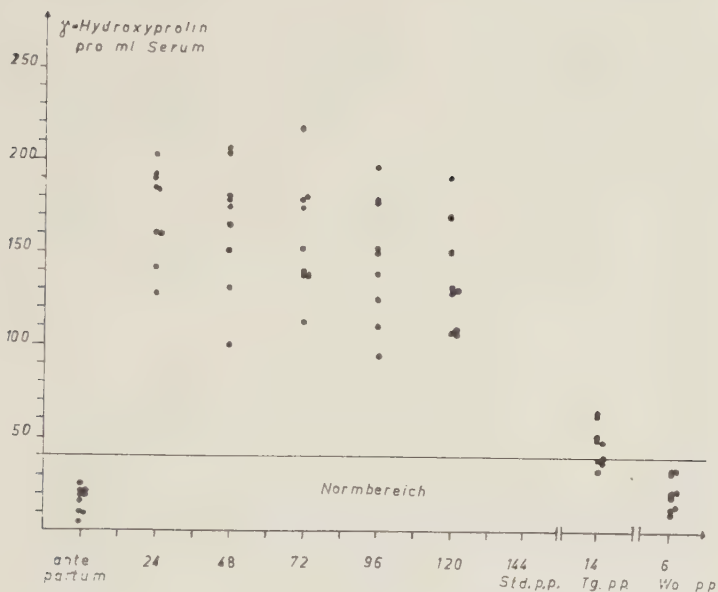
Tabelle 12



Klasse Pat.	ante partum	1. Tg. p.p.	2.	3.	4.	5.	14.	6 Wo
16	3	161	149	147	158	139	37	12
26	15	183	193	185	146	112	46	21
33	11	151	142	152	135	112	35	12
34	22	171	185	162	150	114	49	30

Parität: I. para

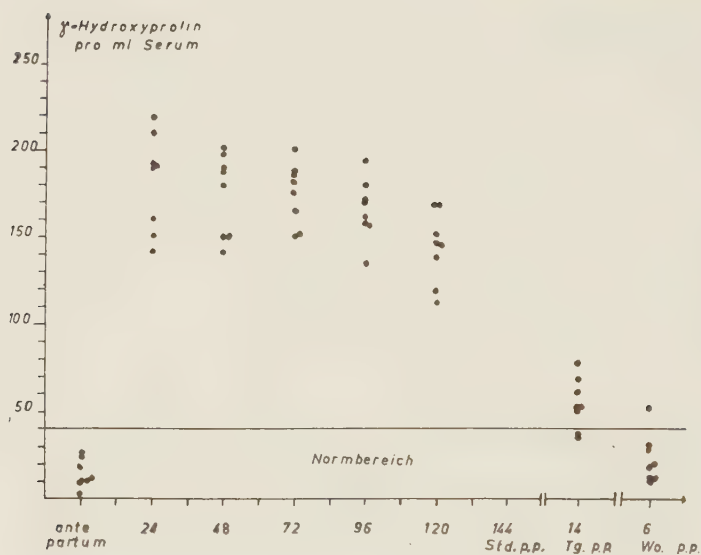
Tabelle 13



Klasse Pat.	ante partum	1. Tg. p.p.	2. -	3. -	4. -	5. -	14. -	6 Wo -
2	19	161	165	175	150	129	61	32
12	21	185	175	140	139	130	49	31
13	25	190	204	218	197	191	63	21
18	16	160	151	138	110	109	40	13
15	10	142	100	112	94	106	32	12
29	21	194	207	180	179	170	48	20
31	9	128	131	138	152	151	38	18
45	4	184	179	152	125	107	51	32
46	19	203	181	179	177	132	39	9

Parität: II.para

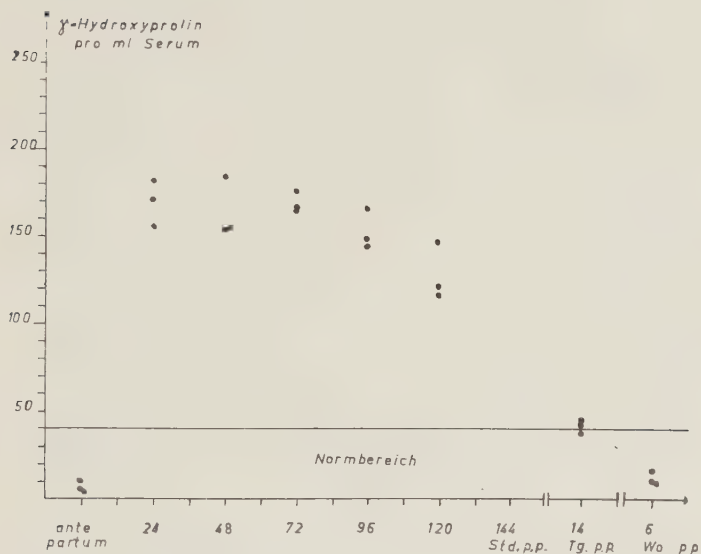
Tabelle 14



Klasse Pat.	ante partum	1.Tg. p.p.	2. -	3. -	4. -	5. -	14. -	6 Wo -
1	11	190	199	186	180	147	50	31
5	10	142	152	201	162	118	52	10
16	3	161	149	147	158	139	37	12
24	12	211	191	182	172	168	61	18
30	27	220	180	165	157	146	78	52
33	11	151	142	152	135	112	35	12
35	18	193	187	176	170	168	68	20
37	24	192	202	189	195	152	52	29

Parität: III.para

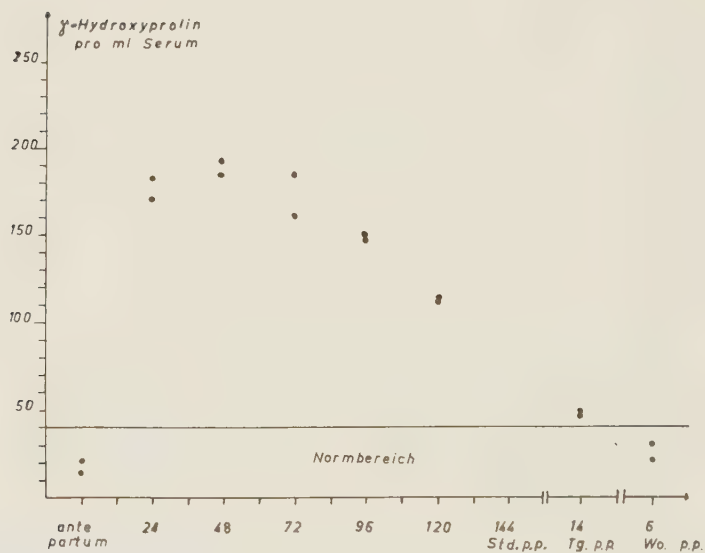
Tabelle 15



Klasse Pat.	ante partum	1.Tg. p.p.	2. -	3. -	4. -	5. -	14. -	6 Wo -
4	4	182	154	167	144	147	45	10
28	10	156	155	165	166	121	36	9
39	5	171	185	176	148	116	42	15

Parität: IV.para

Tabelle 16



Klasse	ante	1. Tg.	2.	3.	4.	5.	14.	6 Wo
Pat.	partum	p.p.	-	-	-	-	-	-
26	15	183	193	185	146	112	46	21
34	22	171	185	162	150	114	49	30

5.0 Diskussion

Die postpartale Involution ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen in der Geburtshilfe und Wehenforschung, da sie einen der schnellsten biologischen Resorptionsprozesse darstellt und der Vorgang bzw. die Ursache, die diese Resorption in Gang bringt, bisher noch ungeklärt ist. Die meisten Untersuchungen wurden am Uterus selbst vorgenommen, wobei die quantitative Bestimmung des Kollageneiweißes auf dem Nachweis des Hydroxyprolins beruht, das ausschließlich im Kollagen vorkommt. Die in der Literatur angegebenen Methoden zur Bestimmung des Hydroxyprolins beziehen sich im wesentlichen auf die Methoden von PROCKOP und UDEN-FRIEND (1960) sowie STEGEMANN (1958), die sich aus der Methode von NEUMANN und LOGAN (1950) entwickelte. Beide Methoden liefern verlässliche Werte, jedoch erfordert die Methode von STEGEMANN, die für das Sehengewebe von RAUSKOLB (1967) modifiziert wurde, einen geringeren Aufwand bei gleich guten Ergebnissen und ist schneller und einfacher im Analysengang.

Nur wenige Arbeiten existieren, die die Serum-Konzentration des Hydroxyprolins und deren Ausmaß während der Involution beschreiben.

Lediglich WOESSNER (1962) bestimmte die Serum-Hydroxyprolin-Konzentration während der Involution bei Ratten genauer. Da während der Involution das Kollagen abgebaut wird und sich im Serum durch eine erhöhte Konzentration von freiem Hydroxyprolin nachweisen läßt, liegt es nahe, das Maß dieser Konzentration während der Zeit der Involution zu verfolgen.

Die Untersuchung der Hydroxyprolin-Konzentration im Urin bietet sich nicht so sehr an, da weniger als

15% des freien Hydroxyprolins hier erscheint und die Methode zur Bestimmung im Urin sehr viel aufwendiger ist als die im Serum (44).

Da die Serum-Konzentrationen allgemein tagesperiodischen Schwankungen unterliegt, die von JORES (19) unter anderem auch für den Serum-Eisen-Spiegel gesichert wurden, wurde mittels eines Tagesprofils nachgewiesen, ob sich diese Schwankungen auch für den Serum-Hydroxyprolin-Spiegel verifizieren lassen.

Es fanden sich hierbei Konzentrationen, die zur Mittagszeit signifikant am höchsten sind und mit den Abendwerten auch noch die Morgenwerte übersteigen. An beeinflussenden Faktoren wäre in diesem Fall am ehesten an die körperliche Bewegung, den Stillvorgang und die Ernährung zu denken. Jedoch scheint die Ernährung hierbei keine größere Rolle zu spielen, wie PROCKOP und Mitarbeiter an Hand der Hydroxyprolinausscheidung feststellten.

Um diesen Tagesschwankungen auszuweichen, empfiehlt es sich, das Serum jeden Tag zur selben Zeit zu entnehmen.

Die postpartale Involution beginnt nach CRETIUS und WOESSNER 14 Stunden nach der Geburt und ist am 8. - 11.Tag post partum mit nahezu 75% vollständig. Den höchsten Kollagengehalt hat der Uterus zum Zeitpunkt des Geburtstermins.

Es wäre entsprechend dem raschen Abfall des Uteruskollagengehaltes zu erwarten, daß der Serum-Hydroxyprolin-Spiegel 14 Stunden post partum in die Höhe schnellte, um danach ebenso kontinuierlich und schnell abzufallen, bis er schließlich sechs Wochen post partum wieder seine ursprüngliche Höhe erreicht. Dargestellt wird dieser Kurvenverlauf von Frauen mit einer

normal verlaufenden Schwangerschaft. Die Auftragung der Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit ergibt eine Kurve, die insofern von der zu erwartenden abweicht, als der Abfall nicht plötzlich, sondern erst nach dem vierten bis fünften Tag nach der Geburt eintritt und sich die Serum-Konzentration während der ersten drei Tage post partum nahezu auf dem gleichen Niveau hält oder nur unwesentlich abnimmt.

Dieses dadurch gebildete Plateau, das mehr oder weniger bei allen Kurven nachzuweisen ist, entsteht wahrscheinlich durch einen mangelnden Abbau des Hydrocyprolins auf Grund des plötzlich überschießenden Substratangebotes.

Nach 14 Tagen post partum ist die Konzentration um ca. 75% gesunken, entspricht also den Angaben der Literatur. Nach sechs Wochen post partum liegt die Serum-Konzentration wieder im Normbereich.

Die ersten Werte wurden frühestens zwölf Stunden post partum ermittelt. Die Konzentrationen liegen zu diesem Zeitpunkt bereits bei maximalen Werten und decken sich mit den Angaben von CRETIUS.

Es bleibt zu untersuchen, ob bereits unter der Geburt und in den ersten zwölf Stunden post partum ein erhöhter Serum-Hydroxyprolin-Spiegel nachzuweisen ist.

Der beschriebene Kurvenverlauf ist in allen Fällen mit einer statistischen Wahrscheinlichkeit von $p < 0,001$ gesichert.

Nach den Angaben der Literatur wäre zu erwarten, daß der Kollagenabbau mit steigender Parität auf Grund des höheren Gehaltes an Kollagen zunimmt und

mit steigendem Alter auf Grund des erhöhten Vernetzungsgrades und damit einer zunehmenden Unlöslichkeit der Kollagenabbau abnimmt.

Es liegt auch im Bereich des Möglichen, anzunehmen, daß der Kollagenabbau durch pathologische Veränderungen der Stoffwechsellage (Gestose, Diabetes mellitus) und durch traumatisierende Eingriffe beeinflusst werden könnte. Es werden daher entsprechende Patientinnen untersucht. Die Frauen, die zur Gruppe der normalen Schwangerschaften gehören, stellen insofern einen guten Querschnitt für eine Normalkurve dar, als sie altersmäßig sowohl zu den jugendlichen Frauen (17 - 20) als auch zu den Frauen mittleren Alters (26 - 30) zählen. Diese Gruppe beinhaltet I. - Iv.parae, davon 50% II.parae.

Nach Alter und Parität aufgeteilt, ergibt sich folgendes Bild: die Kurve der 17-20jährigen liegt mit ihren Werten ca 10 mcg/ml Serum über die ganze Zeit höher als die Normalkurve, wobei die Schwankungen zwischen den Patienten mit $p < 0,05$ gesichert ist (Normalkurve: $p < 0,001$). Die 21-25jährigen liegen um ca 10 mcg/ml Serum unter der Normalkurve ($p < 0,01$), während die 26-30jährigen im Bereich der Normalkurve liegen ($p < 0,001$) und einen höheren Konzentrationsanstieg haben. Die 31-47jährigen liegen unter der Normalkurve, wobei sich die Schwankung zwischen den Patienten auf Grund der geringen Fallzahl statistisch nicht sichern läßt.

Vergleicht man die Patientinnen aufgeteilt nach ihrer Parität miteinander, so ergibt sich für die I.parae eine um 6-10 mcg/ml Serum unter der Normalkurve gelegene Kurve ($p < 0,001$). Die II.parae liegen um 10-18 mcg/ml Serum höher als die I.parae und damit im Bereich der Normalkurve. Auch die III.parae zeigen keinen wesentlichen Unterschied, bis auf einen

zeitlich verlagerten Gipfel, der für einen verzögert ablaufenden Abbau spricht, wie es auch bei den IV.parae der Fall ist, deren Abbau zudem noch zeitlich früher beendet ist.

Da es nicht möglich ist, die Patientinnen nach Alter und Parität einzuteilen und zu vergleichen, ohne zu berücksichtigen, wie die Aufteilung der Paritäten in den Altersgruppen und umgekehrt ist, werden die einzelnen Gruppen entsprechend aufgeschlüsselt.

Es zeigt sich, daß in der Gruppe der 17-20jährigen vorwiegend I.parae sind, in der Gruppe der 21-25-jährigen I. und II.parae, bei den 26-30jährigen II. und III.parae und bei den 31-47jährigen zwei II.parae und zwei IV.parae.

Bei der umgekehrten Betrachtung liegen die Verhältnisse entsprechend. Die I.parae beinhalten 17-25-jährige, die II.parae 17-47jährige mit einem Gipfel bei 26-30jährigen. Die III.parae beinhalten nur 26-30jährige und die IV.parae nur 31-47jährige.

Berücksichtigt man bei dem Vergleich nun diese beiden Faktoren, nämlich Alters- und Paritätsgruppen mit gleichzeitiger Beinhaltung verschiedener Paritäten bzw. Altersgruppen, so ergibt sich, daß sämtliche Kurven um die Normalkurve um ca $\pm$ 10 mcg/ml Serum schwanken.

Es lassen sich bei den hier untersuchten Frauen an Hand der postpartalen Serum-Hydroxyprolin-Konzentration keine der in der Literatur bezüglich des Kollagengehaltes und -abbaues des Uterus selbst angegebenen und dementsprechenden Verhältnisse nachweisen.

Zudem muß man berücksichtigen, daß man von der Serum'hydroxyprolin-Konzentration nur indirekt auf den Kollagengehalt des Uterus schließen kann. Auch ist der Serumspiegel sehr viel weitgehender beeinflußbar, sei es durch die oben erwähnten Tagesschwankungen oder sei es durch verzögerte Abbauvorgänge in der Leber mit "Rückstau" des Hydroxyprolins im Serum oder sei es durch andere nicht bekannte Beeinflussungen.

So kann für die Patientinnen mit Gestosen und Patientinnen, bei denen der Uterus unter der Geburt traumatisiert wurde, auf Grund der beeinflussenden Faktoren nur ähnliche Verhältnisse, aber keine signifikanten Unterschiede gesichert werden.

Lediglich bei den Diabetesfällen schien der Abbau über die gesamte Zeit betrachtet gesteigert zu sein, wobei die Ursache nicht geklärt ist.

Übereinstimmend damit scheint jedoch zu sein, daß man bei Diabetes auch einen erhöhten Stoffwechsel der Mucopolysaccharide nachweisen kann.

Die direkte Bestimmung am Uterusgewebe selbst wird immer im Tierversuch bei genaueren Untersuchungen zu empfehlen sein, läßt sich jedoch bei Wöchnerinnen nicht vornehmen. Es kann aber durch die vorliegenden Ergebnisse gezeigt werden, daß sich der postpartale Kollagenabbau im Uterus im Serum-Hydroxyprolin-Spiegel darstellen läßt und daß der Gehalt an Hydroxyprolin im Serum als Parameter für diesen Abbau geeignet ist.

Die Fehlerbreite dieser Untersuchungen liegt bei $\pm 2\%$ bis $\pm 6,5\%$ und ist damit etwas höher als in

der Literatur angegeben. Zurückzuführen ist dieser größere Fehler darauf, daß bei der Untersuchung keine automatischen, sondern konventionelle Pipetten benutzt wurden.

6.0 Zusammenfassung

Es wurde der Serum-Hydroxyprolingehalt bei 46 Frauen während der postpartalen Involution bestimmt.

Es sollte die Frage untersucht werden, wie sich der Gehalt des Hydroxyprolins im Serum im Verlauf der Involution verhält und ob er durch Stoffwechselkrankheiten, Trauma oder durch Alter und Parität beeinflusst wird.

Die 46 Patientinnen unterteilten sich in Frauen mit normaler Schwangerschaft und physiologisch verlaufendem Wochenbett, in Frauen mit klinisch gesicherter Gestose und Diabetes mellitus sowie in Frauen, bei denen der Uterus unter der Geburt traumatisiert wurde.

Das Hydroxyprolin wurde nach der Methode von STEGEMANN, modifiziert nach RAUSKOLB im Serum bestimmt.

Es ergaben sich Hydroxyprolinkonzentrationen bei Nichtgraviden und Graviden ante partum von 0 - 50 mcg/ml Serum.

Innerhalb der ersten 24 Stunden post partum stieg die Konzentration um das Dreizehnfache, hielt sich bis zum vierten bis fünften Tag post partum auf dieser Höhe, um dann kontinuierlich abzusinken, bis 14 Tage post partum die Konzentration um 75% abgefallen war, um sechs Wochen post partum wieder im Normbereich zu liegen.

Der Verlauf dieser Kurve ist mit $p < 0,001$ signifikant. Diese Beobachtungen decken sich mit Angaben der Literatur.

Es ergab sich kein wesentlicher oder signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen untersuchten Gruppen, auch ließ sich ein Unterschied auf Grund des Alters oder der Parität nicht verifizieren. Der Fehler der Methodik lag bei diesen Untersuchungen bei $\pm 2\%$ bis $\pm 6,5\%$.

7.0 Literaturverzeichnis

1. CHVAPIL, M., J.HURYCH:
Hydroxylation of Prolin in vitro
Nature, 184, 1145 (1959)
2. CORONADO, A., E.MARDONES, J.E.ALLENDE:
Isolation of Hydroxylysyl-sRNA and
Hydroxyprolyl-sRNA in a Chick Embryo
System
Biochem.Biophys.Res.Comm. 13, 75 (1963)
3. CORONADO, A., E.MARDONES, J.CELIS, J.E.ALLENDE:
The Formation of Hydroxyprolyl-sRNA
and Hydroxylysyl-sRNA in a Chick
Embryo System
Vith Internat.Congr.Biochem. New York
1964, Abstr.1 - 35
4. CRETIVS, K.:
Zur molekularen Struktur des Binde-
gewebes im menschlichen Uterus
Arch.Gynäk. 202 (1965)
5. CRETIVS, K., K.HANNIG, G.BEIER:
Untersuchungen zur Löslichkeit und
zum Verhalten des Kollagens im nicht-
schwangeren und im schwangeren mensch-
lichen Uterus
Arch.Gynäk. 203, 329 (1966)
6. CRETIVS, K.:
Weitere Studien über die Beschaffen-
heit des Uteruskollagens
Geburtsh.u.Frauenhk. 26, 669 (1966)
7. CULLEN, B.M., R.D.HARKNESS:
Stimulation by Distension of Collagen
Formation in the Rat's Uterus
J.Physiol. 148, 6 (1959)

8. GERBER, G.B., G.GERBER, K.I.ALTMAN:
Studies on the Metabolism of Tissue
Proteins - Turnover of Collagen Labeled
with Proline-U-C¹⁴ in Young Rats
J.Biol.Chem. 235, 2653 (1960)
9. GIESEKING, R.:
Die Fibrillogenese in verschiedenen
Bindegewebsformen des menschlichen
Embryos
Beitr.Silikose-Forsch.Sonderband
4, 231 (1960)
10. GRASSMANN, W.:
Kollagen
Sonderabdruck aus "Fortschritte der
Chemie organischer Naturstoffe"
Springer Verlag, XXIII.Band 1965
11. GRIES, G., J.LINDNER:
Untersuchungen über den Kollagenab-
bau bei akuten Entzündungen
Zschr.Rheumaforsch. 20, 122 (1961)
12. GROSS, J.: Studies in the Formation of Collagen -
III. Time-dependent Solubility Changes
of Collagen in Vitro
J.Exper.Med. 108, 215 (1958)
13. HARKNESS, M.L.R., R.D.HARKNESS:
The Collagen Content of the Reproductive
Tract of the Rat during Pregnancy and
Lactation
J.Physiol. 123, 492 (1954)
14. HARKNESS, M.L.R., R.D.HARKNESS:
The Distribution of the Growth of
Collagen in the Uterus of the Preg-
nant Rat
J.Physiol. 132, 492 (1956)

15. HARKNESS, R.D., B.E.MORALEE:
The Time-course and Route of Loss of
Collagen from the Rat's Uterus during
post-partum Involution
J.Physiol. 132, 502 (1956)
16. HARTMANN, F.:
Hydroxyprolin Ausscheidung im Urin
beim primären Hyperparathyreoidismus
Archiv f.Klin.Med. 215, 97 (1968)
17. HERTEL, H., W.SCHMITT:
Spontane Uterusperforation bei Endo-
myometritis puerperalis durch erhöhten
Kollagenabbau
Arch.Gynäk. 206, 456 (1968)
18. JAISLE:
Bau und Funktion des Myometriums (I)
Med.Welt II (1964)
19. JORES, A.:
Periodizität beim Menschen
Studium generale 2, 82 (1949)
20. LANG, K.:
Eine Mikromethode zur Bestimmung des
Prolins und Oxyprolins
Zschr.physiol.Chem. 219, 148 (1933)
21. LUKENS, L.N.:
Evidence for the Nature of the
Precursor that is Hydroxylated during
the Biosynthesis of Collagen Hydroxy-
prolin
J.Biol.Chem. 240, 1661 (1965)
22. MAIBENCO, H.C.:
Connective Tissue Changes in post
partum Uterine Involution in the
Albino Rat
Anat.Rec. 136, 59 (1960)
23. MANNER, G., B.S.GOULD:
Collagen Biosynthesis - The Formation
of Hydroxyproline and Soluble-
Ribonucleic Acid Complexes of Proline
and Hydroxyproline by Chick Embryo in
Vivo and by a Subcellular Chick Embryo

System

Biochem.biophysica acta, N.Y.

72, 243 (1963)

24. MORRIONE, T.G., S.SEIFTER:

Alteration in the Collagen Content of
the Human Uterus during Pregnancy and
Post Partum Involution

J.Exper.Med. 115, 457 (1962)

25. MÜLLER, H.G.:

Der Eiweißstoffwechsel der Uterus-
muskulatur in der Gravidität

Zschr.Geburtsh. 163, 22 (1964/65)

26. NEUBERGER, A., J.C.PERRONE, H.G.B.SLACK:

The Relative Metabolic Inertia of
Tendon Collagen in the Rat

Biochem.J. 49, 199 (1955)

27. NEUMANN, R.E., M.A.LOGAN:

The Determination of Hydroxyproline

J.Biol.Chem. 184, 299 (1950)

28. PETERKOFISKY, B., S.UDENFRIEND:

Conversion of Proline to Collagen
Hydroxyproline in a cell-free System
from a Chick Embryo

J.Biol. Chem. 238, 3966 (1963)

29. PETERKOFISKY, B., S.UDENFRIEND:

Enzymatic Hydroxylation of Proline
in Microsomal Polypeptide Leading to
Formation of Collagen

Proc.Nat.Acad.Sci.(USA) 53, 335 (1965)

30. PIEZ, K.A., M.S.LEWIS, G.R.MARTIN, J.GROSS:

Subunits of the Collagen Molecule
Biochim. biophysica acta, N.Y.,
53, 596 (1961)

31. PROCKOP, D.J., A.SJOERDSMA:

Significance of Urinary Hydroxyproline
in Man

J.clin.Investigation 40 (1961)

32. PROCKOP, D.J. ;
Isotopic Studies on Collagen Degradation and the Urine Excretion of Hydroxyproline
J.Clin.Invest. 43 (1964)
33. PROCKOP, D.J., S.UDENFRIEND:
A Specific Method for the Analysis of Hydroxyproline in Tissues and Urine
Analyt.Biochem.I, 228 (1960)
34. RAPOPORT, S.M. :
Medizinische Biochemie
VEB, Berlin 1966
35. RAUSKOLB, R. :
Untersuchungen zur Methodik der Bestimmungen von Hydroxyprolin im Sehnengewebe
Inaugural-Dissertation Giessen, 1967
36. SCHAUB, M.C. :
A Collagen Degrading Mechanism in the Rat Uterus during Post Partum Involution
Helvet.physiol.pharmacol.acta, Suppl. 21, 227 (1963)
37. SCHAUB, M.C. :
Abbau von Kollagen durch einen Faktor im Uterus
Helvet.physiol.pharmacol.acta, Suppl. 22, C 38 (1964)
38. SCHAUB, M.C. :
Distribution and Variation of a Collagen Degrading Enzyme in the Uterus of Pregnant Rats
Experientia, Bassel, 20, 675 (1964)
39. SCHAUB, M.C. :
Changes of Collagen in the Aging and in the Pregnant Uterus of White Rats
Gerontologica 10, 137 (1964/65)

40. SCHAUB, M.C.:
Die Wirkung von Kathepsin auf Kollagen
und Casein im graviden und nichtgravidem
Uterus der Ratte
Zschr.physiol.Chem. 343, 130 (1965)
41. SCHWARZ, W., F.H.GÜLDNER:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen
des Kollagenabbaues im Uterus der
Ratte nach der Schwangerschaft
Zschr. Zellforsch. 83, 416 (1967)
42. SCHWARZ, W., J.H.MERKER:
Die Fibrillogenese in verschiedenen
Bindegewebsformen des menschlichen
Embryos
Beitr.Silikose-Forschung Sonderband
4, 231 (1960)
43. STALDER, K.: Bestimmung von Hydroxyprolin im Harn
Fresenius Zschr.Analyt.Chem.
212, 196 (1965)
44. STALDER, K., H.STEGEMANN:
Zur Ausscheidung von Hydroxyprolin im
Harn
Zschr.physiol.Chem. 348, 242 (1967)
45. STEGEMANN, H.:
Mikrobestimmung von Hydroxyprolin mit
Chloramin-T und p-Dimethylamino-
benzaldehyd
Zschr.physiol.Chem. 311, 41 (1958)
46. STEGEMANN, H., K.STALDER:
Determination of Hydroxyproline
Clin.Chim.Acta 18, 267 (1967)
47. STETTEN, M.R.:
Some Aspects of the Metabolism of
Hydroxyproline, Studied with the Aid
of Isotopic Nitrogen
J.Biol.Chem. 181, 31 (1949)

48. WALDSCHMIDT-LEITZ, E., S.AKABORI:
Bestimmung von Oxyprolin
Zschr.physiol.Chem. 224, 187 (1934)
49. WINER, B.J.: Statistical Principals in Experimental
Design
McGraw-Hill Series in Psychology, N.Y.,
1962
50. WOESSNER, B.J.jr.:
Collagen Degradation in Involuting
Uterus
Fed.Proc. 18, 461 (1959)
51. WOESSNER, B.J.jr.:
Catabolism of Collagen and Non-
Collagen Proteine in the Rat Uterus
during Post Partum Involution
Biochem.J. 83, 304 (1962)
52. WOESSNER, B.J.jr., T.H.BREWER:
Formation and Breakdown of Collagen
and Elastin in the Human Uterus
during Pregnancy and Post-Partum
Involution
Biochem. J. 89, 75 (1963)
53. WOESSNER, B.J.jr.:
Acid Hydrolases of the Rat Uterus
in Relation to Pregnancy, Post-
Partum Involution and Collagen
Breakdown
Biochem.J. 97, 855 (1965)
54. WOESSNER, B.J.jr.:
Estradiol Inhibition of Collagen
Breakdown in the Involuting Uterus
Fed.Proc. 25 (1966)
55. WOESSNER, B.J.jr.:
Postpartum Involution of the Uterus
Connective Tissue Framework
OB/Gyn.Gigest 10, 44 (1968)

56. WOLF, G., C.R.A.BERGER:

The Metabolism of Hydroxyproline in
the Intact Rat - Incorporation of
Hydroxyproline into Protein and
Urinary Metabolites

J.Biol.Chem. 230, 231 (1958)

57. WOMACK, M., W.C.ROSE:

The Role of Prolin, Hydroxyprolin
and Gentamic Acid in Growth

J.Biol.Chem. 171, 37 (1947)

8.0 Lebenslauf

Am 28. Mai 1945 wurde ich, Horst Eberhard Michalek, in Mittweida/Sachsen als drittes Kind des damaligen Bundesbahnoberinspektors Siegfried Michalek und dessen Frau Olga Michalek, geb. Köhler, geboren.

Nach Ausweisung aus Sachsen kamen wir zunächst in Niedervellmar/Kassel unter, 1951 zogen wir nach Kassel. Dort wurde ich 1952 eingeschult, 1956 trat ich in die Albert Schweitzer-Schule, ein Gymnasium für Jungen, ein.

Nach bestandenem Abitur 1965 begann ich an der Justus Liebig-Universität, Giessen, das Medizinstudium, das ich ohne Unterbrechung bis zum Staatsexamen in Giessen beendete.

Vom zivilen Ersatzdienst war ich während des Studiums zurückgestellt.

Die Geschichte

Die Geschichte der Stadt Gießen ist eine Geschichte der Entwicklung einer kleinen Marktsiedlung zu einer der größten Städte des Mittelraums. Im Mittelalter war Gießen eine wichtige Station auf der Handelsroute zwischen dem Rhein und der Elbe. Die Stadt wurde durch ihre strategische Lage an der Kreuzung der Main- und Lahn-Flüsse zu einer wichtigen Festung und zu einem Zentrum der Verwaltung.

Im 16. Jahrhundert wurde Gießen durch die Reformation zu einer protestantischen Stadt. Die Stadt wurde durch die Einführung der Reformation zu einer wichtigen Station auf der Handelsroute zwischen dem Rhein und der Elbe. Die Stadt wurde durch ihre strategische Lage an der Kreuzung der Main- und Lahn-Flüsse zu einer wichtigen Festung und zu einem Zentrum der Verwaltung.

Im 17. Jahrhundert wurde Gießen durch die Reformation zu einer protestantischen Stadt. Die Stadt wurde durch die Einführung der Reformation zu einer wichtigen Station auf der Handelsroute zwischen dem Rhein und der Elbe. Die Stadt wurde durch ihre strategische Lage an der Kreuzung der Main- und Lahn-Flüsse zu einer wichtigen Festung und zu einem Zentrum der Verwaltung.

Im 18. Jahrhundert wurde Gießen durch die Reformation zu einer protestantischen Stadt. Die Stadt wurde durch die Einführung der Reformation zu einer wichtigen Station auf der Handelsroute zwischen dem Rhein und der Elbe. Die Stadt wurde durch ihre strategische Lage an der Kreuzung der Main- und Lahn-Flüsse zu einer wichtigen Festung und zu einem Zentrum der Verwaltung.

Im 19. Jahrhundert wurde Gießen durch die Reformation zu einer protestantischen Stadt. Die Stadt wurde durch die Einführung der Reformation zu einer wichtigen Station auf der Handelsroute zwischen dem Rhein und der Elbe. Die Stadt wurde durch ihre strategische Lage an der Kreuzung der Main- und Lahn-Flüsse zu einer wichtigen Festung und zu einem Zentrum der Verwaltung.

